N° 51

ÉTUDES

SUR LA

MÉTHÉMOGLOBINE

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue à la Faculté de Médecine de Montpellier

Le 13 Avril 1888

PAR

Henri BERTIN-SANS

Né à Montpellier le 30 Mars 1862

ANCIEN AIDE DE PHYSIQUE (Concours 1883) ; ANCIEN AIDE DE PHYSIOLOGIE (1886)
PRÉPARATEUR DE PHYSIQUE ;
CHARGÉ DES FONCTIONS DE CHEF DES TRAVAUX PRATIQUES DE PHYSIQUE ;
LAURÉAT DE LA FACULTÉ
(Prix, 1883; Mention très honorable, 1884)

Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

MONTPELLIER
IMPRIMERIE TYPOGRAPHIQUE Gustave FIRMIN
IMPRIMEUR-ÉDITEUR
DE L'ASSOCIATION GÉNÉRALE DES ÉTUDIANTS
Des Chroniques de Languedoc
De la *Revue Populaire de Médecine et de Pharmacie*

M DCCC LXXX VIII

PERSONNEL DE LA FACULTE

MM. CASTAN. . . . . Doyen
GRASSET. . . . . Assesseur

Professeurs

Clinique médicale	MM.	N....
Clinique des maladies mentales et nerveuses		CAVALIER (✻).
Physique médicale		MOITESSIER (✻).
Médecine légale et toxicologie		JAUMES.
Clinique chirurgicale		DUBRUEIL (✻).
Chimie médicale		ENGEL.
Hygiène		BERTIN-SANS.
Pathologie interne		CASTAN.
Clinique médicale		GRASSET.
Botanique et histoire naturelle médicale		N.
Physiologie		LANNEGRACE.
Clinique obstétricale et gynécologie		L. DUMAS.
Clinique chirurgicale		TEDENAT.
Opérations et appareils		GRYNFELTT.
Pathologie externe		CHALOT.
Anatomie pathologique et histologie		KIENER (✻).
Thérapeutique et matière médicale		HAMELIN (✻).
Anatomie (Chargé du cours)		GILIS.

Doyen honoraire : M. BENOIT (O. ✻ ✻).
Profess. honor. { MM. MARTINS (O. ✻).
DUPRE (C. ✻ ✻).

Chargés de Cours de Cliniques annexes

Clinique des maladies des enfants	MM.	BATLLE, agrégé.
Clinique des mal. syphilit. et cutanées		GAYRAUD, agrégé.
Clinique des maladies des vieillards		MOSSÉ (✻).
Clinique ophthalmologique		TRUC, agrégé.

Agrégés en exercice

MM. CARRIEU	MM. BAUMEL	MM. FORGUE
MAIRET	VILLE	TRUC
BIMAR	GRANEL	GERBAUD
MOSSÉ (✻)	BOINET	GILIS
REGIMBEAU (✻)	BROUSSE	MALOSSE
BLAISE		

MM. GOT, *secrétaire.*
F.-J. BLAISE, *secrétaire honoraire.*

Examinateurs de la Thèse

MM. MOITESSIER (✻), *président.*
ENGEL, *professeur.*
VILLE, *agrégé.*
MALOSSE, *agrégé.*

La Faculté de Médecine de Montpellier déclare que les opinions émises dans les Dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leur auteur ; qu'elle n'entend leur donner ni approbation, ni improbation

A MES PARENTS

A MES MAITRES

A MES AMIS

H. BERTIN-SANS.

À MON PRÉSIDENT DE THÈSE

Monsieur le Professeur **MOITESSIER**

H. BERTIN-SANS.

INTRODUCTION

L'altération particulière de la matière colorante du sang désignée sous le nom de *méthémoglobine* a été, dans ces derniers temps, l'objet d'assez nombreuses études à l'étranger. Elle a beaucoup moins préoccupé les savants français, qui se sont généralement bornés, en ce qui la concerne, à quelques recherches physiologiques. Du reste, pas plus à l'étranger qu'en France, il n'a encore été publié, à ma connaissance, aucun travail d'ensemble sur cette question, d'un intérêt biologique incontestable, et qui pourra, prochainement sans doute, éclairer divers problèmes médicaux.

Il m'a paru intéressant de rassembler les documents épars relatifs à ce sujet, de les discuter, et de soumettre à une expérimentation nouvelle les opinions encore prématurées ou indécises qu'ils ont introduites dans la science.

Pour mettre de l'ordre dans ce travail de critique et de recherche, voici comment j'ai cru devoir en distribuer les divers éléments :

J'ai fait une large part à l'historique; il m'a paru juste et profitable de m'appesantir sur la succession chronologique des diverses phases de cette étude, afin de faire à chacun sa part de mérite et de poser exactement les bases de mon travail ultérieur.

J'ai ensuite exposé et apprécié les différentes idées

émises sur les modes de production de la méthémoglobine, sur sa préparation à l'état cristallin, sur ses propriétés, sur ses apparences spectrales, sur ses composés, sur sa constitution, sur sa formation et son rôle dans l'organisme, sur sa destruction, sur son élimination, sur sa recherche et sur son dosage.

Dans un dernier chapitre, essentiellement expérimental, j'ai indiqué le contrôle auquel j'ai soumis certaines affirmations de mes prédécesseurs, insistant plus particulièrement sur les points qui m'ont paru obscurs ou douteux, et j'ai tenté, par des investigations personnelles, d'ajouter quelques démonstrations et quelques faits nouveaux à ceux déjà connus. Obligé par les circonstances de hâter cette première publication de mes recherches, je me propose de les reprendre plus tard pour les compléter.

C'est à mon Maître éminent, M. le professeur Moitessier, que je dois l'idée première de ce travail, et je tiens à saisir cette occasion de le remercier, non-seulement pour ce conseil, mais encore pour l'amicale et précieuse direction qu'il a bien voulu, depuis longtemps, imprimer à mes études. Qu'il reçoive donc ici l'expression de ma vive reconnaissance, en même temps que de ma respectueuse affection !

MM. les professeurs Engel et Kiener et M. le professeur-agrégé Malosse m'ont aussi aidé de leurs savantes indications avec une obligeance dont je sens tout le prix, et pour laquelle je suis heureux de leur adresser aussi mes remerciements.

ÉTUDES

SUR LA

MÉTHÉMOGLOBINE

CHAPITRE PREMIER

HISTORIQUE

En 1864, Hoppe-Seyler indiqua que, lors de la décomposition spontanée de l'oxyhémoglobine, il prenait naissance une substance particulière fort analogue, au point de vue optique, à l'hématine, mais s'en distinguant pourtant par quelques caractères spéciaux. Les solutions de cette substance étaient colorées en brun, et leur spectre, tout à fait semblable à celui de l'hématine en solution acide, présentait comme ce dernier une bande d'absorption dans le rouge entre les lignes C et D de Frauenhoffer. Cette bande paraissait trois fois plus rapprochée de C que de D. La nouvelle substance différait de l'hématine par sa propriété d'être coagulable par la chaleur et par sa facile solubilité dans l'eau ; toutefois Hoppe-Seyler ne donna pas encore un nom à ce produit de décomposition de l'oxyhé-

moglobine ; il n'osa pas affirmer son existence propre et admit même qu'il était fort possible que le corps en question fût simplement de l'hématine, qui aurait dû sa solubilité dans l'eau à un reste d'oxyhémoglobine non décomposée ou à un peu d'albumine. Kühne s'efforça plus tard de démontrer qu'il en était réellement ainsi.

Hoppe-Seyler observa en outre que ce produit de décomposition, auquel il ne donna qu'ultérieurement, en 1865, le nom de *méthémoglobine*, se formait aussi bien avec les solutions qu'avec les cristaux d'oxyhémoglobine, qu'il prenait naissance par l'action de l'acide carbonique sur l'oxyhémoglobine, de même par l'action de l'ozone, de la chaleur ou encore lorsqu'on desséchait l'oxyhémoglobine à l'aide de la machine pneumatique, en présence de l'acide sulfurique. La couleur brune des solutions de méthémoglobine, faisait remarquer le même auteur, ne se modifiait nullement par l'agitation de la solution en présence de l'oxygène ou de l'air. Cette nouvelle substance se rencontrait le plus souvent dans les vieux extravasats sanguins, peut-être même dans certaines urines colorées en noir ; mais il ne s'en formait pas de traces appréciables, dans l'espace de huit jours, sur un animal vivant, dans un fragment de veine compris entre deux ligatures. Enfin, cette substance était précipitée de ses solutions par le sous-acétate de plomb ; mais le précipité se dissolvait dans un excès de réactif.

L'année suivante, Hoppe-Seyler publia de nouvelles recherches sur les produits de décomposition de la matière colorante du sang ; il admit que la méthémoglobine était due à la combinaison d'une matière albuminoïde avec une matière colorante, sans vouloir cependant rien présumer de sa constitution. Il remarqua toutefois que les solutions qu'il obtenait de cette substance renfermaient constamment des acides gras, tels que : acide formique, acide butyrique, etc.

Dans un travail sur l'action de l'hydrogène sulfuré sur

l'hémoglobine, le même auteur constate qu'il se forme dans ces conditions un corps, sans doute un sulfure d'hémoglobine ou d'hématine, caractérisé par une bande dans le rouge, mais qui se distingue pourtant de la méthémoglobine par certaines réactions caractéristiques ; il indique à ce propos les positions respectives des bandes, dans le rouge, du sang traité par différents acides, de l'hématine pure en solution dans l'alcool acidulé par l'acide sulfurique et de la méthémoglobine.

Quelques années plus tard, Arthur Gamgee observa que le sang d'animaux empoisonnés avec le nitrite d'amyle présentait un changement de coloration remarquable ; il était couleur chocolat et son spectre avait des caractères spéciaux, car les deux bandes d'absorption de l'oxyhémoglobine étaient considérablement affaiblies, tandis qu'une nouvelle bande apparaissait dans le rouge, bande qui occupait la même position que celle de l'hématine acide. Si l'on ajoutait aux solutions sanguines ainsi modifiées quelques gouttes d'ammoniaque, les deux bandes situées entre D et E devenaient plus distinctes, tandis que la bande dans le rouge disparaissait et était remplacée par une bande à l'union de l'oranger et du jaune, au niveau de la raie D. Si l'on faisait agir sur les solutions sanguines traitées par le nitrite d'amyle des agents de réduction tels que les sels ferreux, le sulfure ammonique, etc., on obtenait un spectre qui ne différait en rien de celui de l'hémoglobine réduite, et la solution, agitée alors avec l'air, présentait très nettement le spectre de l'oxyhémoglobine. Les nitrites d'éthyle, de sodium, de potassium, avaient exactement sur le sang le même effet que le nitrite d'amyle. Gamgee en conclut que le corps nouveau qu'il crut avoir découvert, et qui n'était autre que la méthémoglobine de Hoppe-Seyler, représentait un degré d'oxydation de la matière colorante du sang moins élevé que l'oxyhémoglobine, et que l'action des nitrites sur le sang était un phénomène de réduction. Il prétendit en outre qu'il avait produit cette nou-

velle substance, la méthémoglobine, par l'action du bioxyde d'azote sur le sang ; qu'il l'avait même obtenue à l'état cristallin. Les cristaux étaient identiques à ceux de l'oxyhémoglobine, ou du moins n'en différaient que par leur couleur brun sale.

Dans un mémoire ultérieur, Gamgee admet que les modifications du sang qu'il a constatées sous l'action des nitrites sont dues à la combinaison de ceux-ci avec l'oxyhémoglobine ; il se formerait un nitrite d'hémoglobine.

Preyer, lui, ne croit pas que la substance à laquelle Hoppe-Seyler a donné le nom de méthémoglobine soit de l'hématine maintenue en dissolution grâce à la présence d'albumine ou d'oxyhémoglobine non transformée ; il laisse une solution d'oxyhémoglobine se décomposer pendant un temps suffisamment long pour pouvoir admettre que la transformation a été complète et qu'il n'y a plus dans la solution que de la méthémoglobine ; il observe le spectre de cette substance, qui est constitué par quatre bandes d'absorption ; il ajoute alors à la solution de l'acide acétique et transforme ainsi la méthémoglobine en hématine, et il constate, en même temps que cette transformation, un déplacement des bandes d'absorption. Il prétend que les solutions de méthémoglobine ne sont point précipitées par le sous-acétate de plomb, et il avance en outre, dans son traité sur les cristaux du sang (Iéna, 1871 p. 191), que l'on peut obtenir directement une solution de méthémoglobine ne contenant point d'oxyhémoglobine en ajoutant du permanganate de potassium à une solution de cette dernière substance.

Hoppe-Seyler maintient pourtant d'abord sa manière de voir : l'existence propre de la méthémoglobine est rien moins que prouvée ; il est plus vraisemblable d'admettre que l'on a ici affaire à de l'hématine maintenue en dissolution par de l'albumine soluble provenant de la décomposition de l'oxyhémoglobine.

Mais il se range bientôt à l'opinion de Preyer et tend de plus en plus à considérer la méthémoglobine comme une substance propre bien caractérisée.

En 1870, Sorby, dans le *Quarterly Journal of microscopical Science,* prétend que la substance antérieurement décrite par lui (*Quarterly Journal of microscopical Science,* 1865, p. 205) comme constituant la partie essentielle des taches de sang assez anciennes, et à laquelle il avait donné le nom de *cruorine brune,* n'est autre que le prétendu nitrite d'hémoglobine de Gamgee ou la méthémoglobine de Hoppe-Seyler. Cette substance n'est point caractérisée par une bande unique d'absorption dans le rouge que l'on pourrait facilement confondre avec la principale bande de l'hématine acide ; la position de cette dernière varierait du reste suivant l'acidité de la solution, comme l'avait déjà indiqué Hoppe-Seyler. Le spectre de la cruorine brune présente quatre bandes d'absorption ; la plus distincte se trouve dans le rouge. — Les nitrites n'agissent pas sur une solution sanguine contenant un excès d'ammoniaque ; leur action se produit lentement si la solution est neutre, rapidement si elle est acide. Il se passe alors un phénomène d'oxydation et le produit de décomposition (la méthémoglobine) peut être considéré comme un composé plus oxygéné que l'oxyhémoglobine. On l'obtient du reste à l'aide d'un grand nombre d'agents oxydants, entre autres l'oxyde rouge de manganèse, et il se laisse de nouveau transformer par l'emploi de moyens de réduction en oxyhémoglobine et en hémoglobine. La solution alcaline de la nouvelle substance présente un spectre qui diffère de celui de l'oxyhémoglobine par une étroite bande d'absorption dans l'oranger, fait déjà signalé par Gamgee.

Ray Lancaster ne partage pas la manière de voir de Sorby. Lorsqu'on fait passer pendant longtemps un courant d'acide carbonique dans une solution d'oxyhémoglobine, il se produit

une transformation complète de l'oxyhémoglobine, non en hématine comme l'avait avancé Heynsius au congrès de la British Association, mais en méthémoglobine. Le spectre de cette substance est constitué par deux bandes d'absorption dont l'une, située dans le rouge, occupe une position analogue à la bande correspondante de l'hématine acide, tandis que l'autre, plus large, se trouve à la limite du vert et du bleu, entre les raies *b* et F du spectre solaire. Si on ajoute à la solution d'oxyhémoglobine ainsi modifiée quelques gouttes d'ammoniaque il ne se produit aucun précipité ; si l'on ajoute de l'ammoniaque et du liquide de Stockes, il se reforme de l'hémoglobine réduite qui, par l'agitation à l'air, donne de nouveau de l'oxyhémoglobine. L'action de l'acide acétique fort sur l'oxyhémoglobine n'est point analogue à celle de l'acide carbonique ; il se forme en effet de l'hématine et un composé albuminoïde qui se précipite lorsqu'on neutralise la liqueur par de l'ammoniaque. Dans le premier cas, ajoute Lancaster, l'oxyhémoglobine a été altérée moléculairement ; elle l'a été chimiquement dans le second. L'acide acétique faible n'a pas la même action que lorsqu'il est concentré. Quand on veut transformer une solution d'oxyhémoglobine en méthémoglobine, il est très difficile d'obtenir cette transformation complète ; on a simultanément dans la solution de la méthémoglobine et de l'oxyhémoglobine, ce qui explique les apparences spectrales décrites par les expérimentateurs précédents. De telles solutions présenteraient en effet, à la fois, les deux bandes d'absorption de la méthémoglobine et les deux bandes de l'oxyhémoglobine. La cruorine brune de Sorby, le nitrite d'hémoglobine de Gamgee n'étaient autre chose qu'un mélange de méthémoglobine et d'oxyhémoglobine. Dans l'action des nitrites sur le sang il se produirait même simultanément un peu d'hématine. Lancaster indique enfin un procédé pour préparer des solutions de méthémoglobine pure, qu'il croit être le premier à avoir obtenue.

Dès 1876, la question de la méthémoglobine passe à l'ordre du jour ; les travaux sur cette substance se succèdent à de courts intervalles, en Allemagne surtout.

C'est d'abord Jæderholm, qui constate que la méthémoglobine ne se produit pas seulement par la décomposition spontanée de l'oxyhémoglobine ou par l'addition de faibles quantités d'acides, mais bien par l'action d'agents oxydants, tels que le permanganate de potassium, le chlorate de potassium, l'hypochlorite de sodium, le ferricyanure de potassium, etc... ou encore sous l'influence de corps tels que le sulfate ferreux, etc., ou enfin par l'action de la chaleur en présence d'une minime quantité d'un alcali.

Jæderholm considère, ainsi que Sorby, la méthémoglobine comme un peroxyde d'hémoglobine ; c'est un composé plus oxygéné et plus stable que l'oxyhémoglobine, qui, traité par des agents réducteurs, se transforme d'abord en oxyhémoglobine, puis en hémoglobine réduite. Si la réduction est trop rapide, on ne peut percevoir la formation intermédiaire d'oxyhémoglobine. Lothar Meyer, Pflüger et Zunst, Strassburg, avaient déjà constaté qu'il se formait, lorsqu'on additionnait le sang de faibles quantités d'acide, un composé oxygéné plus stable que l'oxyhémoglobine.

Pour Jæderholm le spectre des solutions acides de méthémoglobine est constitué par quatre bandes et concorde exactement avec celui de l'hématine acide ; toutefois la bande de ce spectre de l'hématine, située dans le rouge, bande dont la position varie suivant le degré d'acidité, pourrait occuper une place un peu différente de celle de la bande correspondante de la méthémoglobine. Les deux solutions de méthémoglobine et d'hématine sont, au contraire, nettement distinctes en solution alcaline. La première présente en effet trois bandes, dont l'une est située entre C et D, plus près de D ; tandis que les deux autres, placées entre D et E, occupent à

peu près la place des bandes α et β de l'oxyhémoglobine, sans toutefois pouvoir être attribuées à la présence, dans la solution, de cette dernière substance.

Dans une note sur les modifications apportées dans les produits de la respiration et sur le sang par les inhalations de nitrite d'amyle, MM. Jolyet et Regnard constatent que le sang prend à la suite de ces inhalations une coloration brun foncé, et que la capacité d'absorption de ce sang pour l'oxygène est notablement diminuée. Si on l'examine au spectroscope, on s'aperçoit que les deux bandes de l'oxyhémoglobine sont considérablement atténuées, tandis qu'une nouvelle bande d'absorption a paru dans le rouge. Toutefois l'hémoglobine recouvre bientôt ses propriétés et son pouvoir de fixer l'oxygène ; les deux bandes de l'oxyhémoglobine réapparaissant alors, tandis que la bande dans le rouge s'évanouit. Il en est de même si l'on ajoute au sang altéré une base ou un carbonate alcalin.

MM. Jolyet et Regnard paraissent peu fixés sur la modification qu'a subie l'oxyhémoglobine sous l'influence du nitrite d'amyle ; peut-être inclinent-ils à penser qu'il s'est formé de l'hématine ; ils constatent seulement que le sang, après cette action, ne peut plus cristalliser comme à l'état normal, qu'il se dégage de l'azote, qu'il disparaît de l'oxygène et que la plupart des nitrites jouissent des mêmes propriétés que celui qu'ils ont expérimenté.

Hoppe-Seyler, dans une série de communications, établit que la putréfaction a sur les solutions d'oxyhémoglobine le même effet que l'ozone : elle les transforme en méthémoglobine caractérisée à l'examen spectroscopique par une bande d'absorption dans le rouge. Les deux bandes entre D et E, considérées par certains auteurs comme faisant partie du spectre de la méthémoglobine, doivent d'après lui être attribuées à de l'oxyhémoglobine non décomposée se trouvant encore dans la solution. Hoppe-Seyler n'admet pas que la méthémoglobine puisse être

considérée comme un hyperoxyde de l'hémoglobine ; mais il pense que si cette substance existe réellement, elle doit être constituée par une combinaison de l'hématine avec une matière albuminoïde. C'est un produit de réduction de l'oxyhémoglobine, car une lame de palladium chargée d'hydrogène transforme à l'abri de l'air une solution d'oxyhémoglobine en méthémoglobine, et en outre, également à l'abri de l'air, la méthémoglobine est transformée par la putréfaction en hémoglobine, qui, en présence de l'oxygène, repasse à l'état d'oxyhémoglobine.

Dans un nouveau mémoire, Hoppe-Seyler confirme les données précédentes ; il apporte de nouvelles preuves à l'appui de sa manière de voir, à savoir que la méthémoglobine est un produit d'oxydation inférieur à l'oxyhémoglobine ; il prétend que, par son contenu en azote, carbone et hydrogène, la méthémoglobine ne diffère pas d'une façon appréciable de l'oxyhémoglobine ; mais il ne fournit aucun résultat d'analyse pour justifier ses assertions et admet d'ailleurs qu'on ne peut rien en inférer.

La transformation de la méthémoglobine en hémoglobine, par les agents de réduction, permet de distinguer cette substance de l'hématine. Par l'addition de sulfure ammonique, une solution d'hématine donne, en présence d'une substance albuminoïde, de l'hémochromogène, tandis que la méthémoglobine donne de l'hémoglobine.

La méthémoglobine peut être décomposée par l'action des acides ou des alcalis en hématine et en matière albuminoïde. Dans l'hématine, le fer se trouverait à l'état de sesquioxyde, tandis qu'il se trouve certainement à l'état de protoxyde dans l'hémochromogène, l'hémoglobine et l'oxyhémoglobine.

Alors s'engage une polémique sur la question de la constitution de la méthémoglobine. La pluplart des auteurs qui traitent de cette substance apportent quelques faits à l'appui de la manière de voir de Hoppe-Seyler ou de celle de Jæderholm. Dans

une nouvelle publication, Jæderholm s'efforce de réfuter les arguments de Hoppe-Seyler et de démontrer que la méthémoglobine est effectivement un peroxyde.

Cependant les recherches s'engagent aussi dans une autre voie. En Italie, Giacosa reprend les travaux de Jolyet et Regnard relatifs à l'action du nitrite d'amyle sur le sang. Le corps qui se forme sous l'influence des inhalations de cette substance n'est autre que de la méthémoglobine ; mais le sang reprend assez rapidement son état normal dans le torrent de la circulation ; il n'en serait pas de même, malgré les assertions de Jolyet et Regnard, pour le sang conservé dans des verres. Cette transformation de la méthémoglobine en oxyhémoglobine ne se produirait *in vitro* que lors de l'apparition de la putréfaction.

Le nitrite de sodium, l'acide nitreux, le peroxyde d'azote ont sur le sang la même action que le nitrite d'amyle.

Cette action est analogue à celle de l'ozone sur le sang en dehors de l'organisme. Toutefois, dans l'organisme, la méthémoglobine n'est pas dissoute, mais est fixée dans le globule rouge. C'est par une action réductrice qu'elle se transforme en hémoglobine ; mais comment s'opère cette réduction ? Giacosa pense que le foie peut ici jouer un rôle qu'il ne détermine pas, du reste.

Dès 1871, Starkow avait remarqué qu'une série de corps aromatiques provoquaient par leur action sur le sang, soit dans l'organisme soit en dehors de lui, une modification caractérisée au spectroscope par une bande d'absorption dans le rouge correspondant à celle de l'hématine acide ; ces corps étaient pour la plupart des dérivés nitrés, tels que le nitrobenzol et le binitrobenzol.

Ces données furent contredites, partiellement du moins, par Filelme, qui ne réussit pas toujours à obtenir la bande dans le rouge, et qui prétendit même que cette bande, lorsqu'elle existait, ne coïncidait pas exactement avec celle de l'hématine.

Lewin reprit la question et constata, sous l'influence du nitrobenzol, la destruction des hématies et l'apparition de cette bande dans le rouge, entre C et D, mais plus près de C. Il s'efforça de démontrer qu'il s'agissait réellement de la bande d'absorption de l'hématine et que le corps obtenu par l'action du nitrobenzol sur le sang n'était autre que cette substance. L'orthonitrophénol exerce sur le sang *in vitro* la même action que le nitrobenzol ; mais cette action est plus lente. Lewin a fait des expériences avec le binitrobenzol, l'éther éthylique, le formiate d'éthyle, l'acétone, le sulfure de carbone, etc., et trouva ces corps doués des mêmes propriétés.

Dans un travail sur l'intoxication par les chlorates, Félix Marchand étudie assez longuement l'action de ces sels sur le sang ; il constate que le chlorate de potassium, aussi bien que le chlorate de sodium, introduit dans le sang, provoque une décomposition de la matière colorante ; le degré de l'altération dépend de la durée de l'action, de la quantité du sel et de la température. Le sang prend une coloration chocolat caractéristique et présente à l'examen spectroscopique les deux bandes atténuées de l'oxyhémoglobine qui disparaissent complètement pour une dilution convenable et une bande manifeste au milieu du rouge ; il s'est formé de la méthémoglobine, reconnaissable à son spectre. On peut constater en outre que les chlorates subissent dans ces circonstances une réduction ; ils passent à l'état de chlorures. Les chlorates agissent encore sur le sang en augmentant sa consistance et en détruisant au bout d'un certain temps les globules rouges. Une modification du sang analogue à celle due à l'action des chlorates paraît se produire dans la maladie dite de Winckel.

A la suite de ces recherches, Félix Marchand publia un mémoire sur la méthémoglobine. Il se range à la manière de voir de Hoppe-Seyler, et admet comme lui que la méthémoglobine est un produit d'oxydation de l'hémoglobine, et un produit

d'oxydation moins élevé que l'oxyhémoglobine. Il appuie ses données sur un certain nombre d'expériences : sous l'action des moyens de réduction tels que le sulfure ammonique, la méthémoglobine se transforme en hémoglobine, qui passe à l'état d'oxyhémoglobine en présence de l'oxygène contenu dans la dissolution. La méthémoglobine s'obtient en traitant l'hémoglobine par les chlorates ou d'autres substances oxydantes, permanganate de potassium, nitrate d'argent, iode, iodure de potassium, chlore, brome, acide pérosmique.

Marchand admet l'existence de deux modifications de la méthémoglobine, l'acide et l'alcaline, pouvant se transformer facilement l'une dans l'autre, et il décrit l'aspect des deux spectres correspondant à ces deux états différents. La méthémoglobine acide présenterait une seule bande dans le rouge, entre C et D, tout près de C; cette bande ressemble beaucoup à celle de l'hématine acide, mais est plus rapprochée du vert. Le spectre de la méthémoglobine alcaline est complètement différent ; il est constitué par deux bandes d'absorption qui occupent à peu près la même position que celles de l'oxyhémoglobine, sans pourtant coïncider avec elles. Si la ligne C correspond à la division 85,5 du micromètre, D à 100, et E à 119,2, la première de ces bandes se trouvera placée entre 94 et 105, la seconde entre 110 et 120 ; mais la première offre cette particularité qu'elle présente une sorte de dédoublement ; la partie située entre 94 et 100 est bien plus pâle que celle qui se trouve entre 100 et 105, et dont le maximum d'obscurité correspond à 102. On peut admettre que l'on a affaire ici à deux bandes juxtaposées. Marchand prétend en outre que, par l'action de l'iode en excès ou de moyens énergiques d'oxydation sur une solution de méthémoglobine, on obtient un nouveau produit d'oxydation de l'hémoglobine ; ce produit présenterait un spectre constitué par deux bandes d'absorption occupant à peu près la même position que celles de l'oxyhémoglobine, sans toutefois

concorder complètement avec elles. Du reste, si l'on dilue suffisamment la solution, c'est la bande située du côté du rouge qui disparaît la première ; les choses se passent d'une façon absolument inverse quand on étend une solution d'oxyhémoglobine. Marchand se demande si ces deux bandes ne sont pas deux de celles qui ont été considérées par certains auteurs, et Preyer entre autres, comme constituant le spectre à quatre bandes de la méthémoglobine ; de telle sorte que ce spectre à quatre bandes ne serait point le spectre de la méthémoglobine pure, mais bien d'un mélange contenant de la méthémoglobine. Le nouveau produit d'oxydation signalé ci-dessus existerait comme la méthémoglobine sous une modification acide et sous une modification alcaline ; cette dernière ne présenterait pas de spectre caractéristique ; ce nouveau produit aurait du reste des réactions fort analogues à la méthémoglobine, puisque, par réduction, il peut donner de l'oxyhémoglobine ou de l'hémoglobine, et que, sous l'action prolongée du sulfure ammonique, il se décompose en hématine alcaline et finalement en hémochromogène. La méthémoglobine, comme on sait, se comporte de même; elle donne par réduction de l'hémoglobine qui, sous l'influence des acides ou des alcalis, subit la transformation indiquée en hématine ; celle-ci, par réduction, passe à l'état d'hémochromogène.

Enfin Marchand combat les idées de Lewin sur les modifications éprouvées par le sang sous l'influence du nitrobenzol ; il ne se produirait pas, dans ce cas, de l'hématine, mais bien de la méthémoglobine.

En 1880 parut dans les archives de Du Bois Reymond un travail de Th. Weil et B. von Anrep, sur l'hémoglobine oxycarbonée. Les auteurs étudient comparativement l'action de certains réactifs sur l'hémoglobine oxycarbonée et sur l'oxyhémoglobine. La première de ces substances résiste bien mieux aux agents oxydants que la deuxième. Une même quan-

tité d'une solution de 0,05 d'iode et de 1 gr. d'iodure de potassium dans 100 gr. d'eau distillée, provoque bien plus rapidement l'apparition de la bande de la méthémoglobine dans le sang oxygéné que dans le sang oxycarboné. Cette différence d'action est du reste directement perceptible, puisque, sous l'influence de la solution indiquée ci-dessus, le sang oxygéné devient jaune et ne montre qu'un léger trouble, tandis que le sang oxycarboné reste rouge et précipite abondamment.

Le chlorate de potasse, le permanganate de potassium, transforment aussi plus rapidement l'oxyhémoglobine en méthémoglobine que l'hémoglobine oxycarbonée. L'ozone donne des résultats moins constants.

Si l'on prend une solution de sang de bœuf modérément concentrée et divisée en deux parties, dont l'une est traitée par un courant d'oxyde de carbone, tandis que l'autre est agitée avec de l'air, 8 centimètres cubes d'une solution de permanganate de potassium à 0,025 °/₀ suffisent pour faire apparaître la bande de la méthémoglobine dans le sang oxygéné, tandis qu'il faut 10 à 12 centimètres cubes de la même solution pour la faire apparaître dans le sang oxycarboné. Les auteurs ont étudié l'action de la solution de permanganate sur le sang d'animaux empoisonnés par l'oxyde de carbone, et ils ont constaté des résultats qui concordent avec les précédents. Il faut toutefois avoir soin de ne pas laisser le sang oxycarboné exposé à l'air, sans quoi l'oxyde de carbone est déplacé par l'oxygène, ce qui trouble les expériences, en diminuant la quantité de solution nécessaire pour produire l'apparition de la bande de la méthémoglobine.

L'action des solutions à 1 °/₀ de pyrocatéchine et d'hydroquinone, à 1/2 °/₀ de pyrogallol, est analogue à celle du permanganate. De faibles quantités de ces substances ne font apparaître la bande de la méthémoglobine que dans le sang

oxygéné ; il faut avoir recours à des doses plus considérables pour provoquer la même apparition dans le sang oxycarboné.

La résorcine agit sur le sang oxygéné plus faiblement encore que les substances précédentes ; les auteurs font remarquer que la résorcine est aussi moins toxique.

L'action des phénols sur l'oxyhémoglobine étant une action réductrice, Th. Weil et B. von Anrep en concluent que, comme l'a indiqué Hoppe-Seyler, la méthémoglobine est un produit moins oxydé que l'oxyhémoglobine.

Si l'on réduit une solution de méthémoglobine obtenue à l'aide de sang oxycarboné et privée de l'oxyde de carbone dissous dans la solution par un courant d'acide carbonique ou d'hydrogène, on obtient constamment de l'hémoglobine oxycarbonée, tandis que par réduction de la méthémoglobine obtenue à l'aide du sang oxygéné, on obtient de l'hémoglobine. Les auteurs en déduisent qu'il existe deux corps différents, la O^2-méthémoglobine et la CO-méthémoglobine, qui présenteraient toutefois la même apparence spectroscopique. Il existerait en outre une méthémoglobine privée du groupement O^2 qui se produirait par oxydation de l'hémoglobine réduite (action d'une solution d'iode sur l'hémoglobine réduite).

Lorsque l'on traite par une solution de permanganate de potassium une solution d'oxyhémoglobine et une solution d'hémoglobine oxycarbonée, la première prend une coloration jaune et il se forme un léger louche ; la seconde reste d'abord rouge, tandis qu'il se forme un abondant précipité, mais elle passe enfin au jaune quand le permanganate est en grand excès. Ces deux solutions jaunes, l'une d'oxyméthémoglobine, l'autre de méthémoglobine oxycarbonée, repassent au rouge par l'addition de quelques gouttes de sulfure ammonique ou d'ammoniaque. Dans les deux cas, le précipité disparaît et la bande d'absorption dans le rouge est remplacée par une bande mal délimitée au niveau de la raie D. On est alors

sans doute en présence du spectre de la méthémoglobine alcaline.

Les auteurs se basent sur les propriétés qu'ils viennent de reconnaître aux solutions de permanganate à 0,025 °/₀ de pyrocatéchine ou d'hydroquinone à 1 °/₀ pour proposer un moyen de diagnostic de l'empoisonnement par l'oxyde de carbone. Suivant la quantité de solution nécessaire pour provoquer l'apparition de la bande de la méthémoglobine dans un sang suspect, on pourrait, en s'aidant d'expériences comparatives, affirmer la présence ou l'absence de l'oxyde de carbone dans le sang. Si l'on employait les solutions de pyrocatéchine ou d'hydroquinone, il faudrait les laisser agir pendant 15 minutes à la température de 40°.

Dans une communication *über die Veræenderung des Blutes bei Verbrennung der Haut,* Hoppe-Seyler rapporte qu'il a reconnu au spectroscope la bande de la méthémoglobine dans l'urine évacuée par un brûlé entre le moment de la brûlure et la mort ; il ajoute à ce sujet qu'il a examiné un grand nombre d'urines contenant de la matière colorante du sang. Ces urines provenaient soit de malades, soit de vaches atteintes d'hématurie, soit d'animaux chez lesquels on avait provoqué une hémoglobinurie artificielle par l'injection d'acides biliaires ou d'une grande quantité d'eau ; dans tous les cas, l'auteur a constamment trouvé de la méthémoglobine, jamais de l'hémoglobine : il en conclut que les reins n'éliminent jamais que de la méthémoglobine et que le phénomène morbide improprement qualifié de *hémoglobinurie* serait plus justement appelé *méthémoglobinurie.* Si l'on a trouvé parfois de l'oxyhémoglobine dans les urines, c'est que ces urines s'étaient corrompues dans la vessie ou dans les récipients dans lesquels elles étaient renfermées. La putréfaction a alors transformé la méthémoglobine en hémoglobine qui s'est oxydée en présence de l'air.

Dès 1863, Hoppe-Seyler avait remarqué que le sang défi-

briné prenait à l'air, sous l'action d'un courant d'hydrogène sulfuré, une couleur rouge sale quand on l'examinait sous une certaine épaisseur et que tout le sang des animaux empoisonnés par l'hydrogène sulfuré montrait cette même coloration. Examiné au spectroscope, ce sang lui avait paru présenter, en outre des deux bandes caractéristiques de l'oxyhémoglobine, une troisième bande dans le rouge. Cette action ne pouvait se produire qu'en présence de l'oxygène, et l'hydrogène sulfuré seul n'était pas capable de la provoquer. En 1866, Hoppe-Seyler, étudiant plus à fond l'action de l'hydrogène sulfuré sur l'hémoglobine, avait admis qu'il se formait dans ces conditions un sulfure d'hémoglobine ou d'hématine qui était détruit par une action trop prolongée de l'hydrogène sulfuré ; un corps nouveau prenait alors naissance et il se déposait du soufre. Dans sa *Chimie physiologique*, en 1881, le même auteur, revenant sur l'action de l'hydrogène sulfuré libre sur l'oxyhémoglobine, admet qu'il se forme ici une combinaison très analogue à la méthémoglobine, combinaison qu'il désigne provisoirement sous le nom de sulfure de méthémoglobine. Ce sulfure, très soluble dans l'eau, posséderait une couleur rouge sale en solution concentrée, vert olive en solution étendue ; il n'aurait pas été obtenu à l'état cristallin ; de même que la méthémoglobine, il absorberait très énergiquement la lumière violette et bleue ; pour un degré de concentration convenable, il présenterait dans le rouge du spectre une bande d'absorption qui serait un peu plus éloignée de l'extrémité la moins réfrangible que la bande correspondante de la méthémoglobine. Enfin, en réponse au dernier travail de Jæderholm parut, en 1882, un nouveau mémoire de Hoppe-Seyler ; l'auteur réfute les expériences de son adversaire, et s'efforce de démontrer que l'on obtient de la méthémoglobine par réduction de l'oxyhémoglobine, et que par réduction de cette méthémoglobine on détermine toujours la

formation d'hémoglobine, jamais d'oxyhémoglobine; mais il est pour cela évidemment nécessaire d'opérer à l'abri de l'air.

La discussion sur la constitution de la méthémoglobine reprend alors de plus belle. C'est d'abord Saarbach qui soutient que la méthémoglobine est un peroxyde d'hémoglobine. Dans la réduction de la méthémoglobine en hémoglobine il se forme toujours de l'oxyhémoglobine comme produit intermédiaire. Dans la transformation de l'hémoglobine en méthémoglobine il se produit également de l'oxyhémoglobine.

Ce sont ensuite Hüfner et Otto qui rapportent avoir obtenu parfois, en voulant préparer de l'oxyhémoglobine de porc cristallisée, une bouillie de cristaux de couleur sale, d'aspect satiné, qui n'étaient autres que des cristaux de méthémoglobine qu'ils purent redissoudre et refaire cristalliser. Ces cristaux avaient la forme de fines aiguilles brunes, solubles dans l'eau, et leurs solutions présentaient le spectre caractéristique de la méthémoglobine. Hüfner et Otto indiquent du reste le procédé à employer pour la préparation de ces cristaux, qu'ils ont pu dessécher et soumettre à l'analyse organique. Ces auteurs estiment que la solubilité de la méthémoglobine est moindre que celle de l'oxyhémoglobine ; il en est de même de sa puissance de coloration en solution neutre; relativement à la constitution de la méthémoglobine, ils inclinent à penser que ce corps bien défini est fort analogue à l'oxyhémoglobine et en diffère, non par son contenu en oxygène, mais bien par le mode d'union de cet oxygène qui est faiblement uni à l'hémoglobine dans l'oxyhémoglobine, tandis que la méthémoglobine constitue une combinaison plus stable.

Henninger, au contraire, remarque que lorsqu'on transforme dans un appareil construit par lui, et en opérant dans un courant d'hydrogène afin d'empêcher l'action de l'air, l'hémoglobine en méthémoglobine par un agent oxydant (ferricyanure de potassium) ou qu'on opère la transformation inverse par un

agent réducteur tel que l'hydrosulfite de sodium, on n'observe jamais au spectroscope la production de la moindre trace d'oxyhémoglobine. Il admet par suite que la méthémoglobine est moins oxydée que l'oxyhémoglobine. De plus, dans l'oxyhémoglobine, une molécule d'oxygène formerait avec l'hémoglobine une combinaison facilement dissociable, tandis que dans la méthémoglobine l'oxygène se serait combiné avec le fer de façon à former un produit beaucoup plus stable. Le fer qui se trouve à l'état de minimum dans l'hémoglobine serait à l'état de maximum dans la méthémoglobine.

En 1883, J. Otto, dans une assez longue étude sur la méthémoglobine, reprend les dernières expériences de Hoppe-Seyler et de Saarbach, relativement à la réduction de la méthémoglobine en hémoglobine par le sulfure ammonique et à la transformation de l'hémoglobine en méthémoglobine sous l'influence de différents agents. Se produit-il dans les deux cas de l'oxyhémoglobine comme terme intermédiaire ? J. Otto a modifié la disposition des expériences faites par les auteurs précédents, mais n'est pas arrivé à des résultats bien certains, dans le premier cas au moins, je veux dire dans le cas de la réduction de la méthémoglobine. Mais peu lui importe, la nouvelle opinion émise par Hüfner explique tous les résultats discordants : la méthémoglobine ne contient ni plus ni moins d'oxygène que l'oxyhémoglobine ; elle en contient juste autant ; seulement cet oxygène, fortement combiné à l'hémoglobine dans le premier composé, lui est au contraire lâchement uni dans le second ; si donc l'on vient à réduire de la méthémoglobine, il pourra se former soit directement de l'hémoglobine, soit d'abord de l'oxyhémoglobine et enfin de l'hémoglobine, suivant que l'agent réducteur agira instantanément ou commencera par détacher l'oxygène avant de le soustraire complètement à la molécule.

Pour démontrer sa manière de voir, Otto détermine, à l'aide du spectrophotomètre, la quantité d'oxyhémoglobine contenue

dans une solution ; il extrait ensuite de cette solution, à l'aide de la pompe à mercure, une quantité d'oxygène qu'il recueille et mesure. La solution ne contient plus alors que de l'hémoglobine et de la méthémoglobine ; il l'agite au contact de l'air, l'hémoglobine se transforme en oxyhémoglobine ; il détermine, à l'aide du spectrophotomètre, la quantité d'oxyhémoglobine et de méthémoglobine qui existent dans la solution ; cette quantité est trouvée sensiblement égale à la quantité primitive d'oxyhémoglobine employée. De plus, si l'on calcule la quantité d'oxygène que doit contenir la proportion d'oxyhémoglobine qui restait dans la solution à l'état d'hémoglobine réduite après l'action de la pompe, on trouve cette quantité très sensiblement égale à celle qui a été extraite et mesurée ; il est, par suite, évident que l'oxyhémoglobine qui est passée à l'état de méthémoglobine n'a point emprunté d'oxygène à celle qui s'est réduite en hémoglobine. La méthémoglobine contient donc autant d'oxygène que l'oxyhémoglobine.

Enfin Otto a trouvé dans la série de ses expériences que certains agents réducteurs, poussière de zinc, amalgame de sodium, décolorent la méthémoglobine et donnent naissance à des substances incolores, cristallisant bien. Il démontre en outre, par des dosages spectrophotométriques, un fait déjà admis, mais ne reposant sur aucune expérience, que la méthémoglobine se transforme, en tube scellé, sous l'influence de la putréfaction, en une quantité d'hémoglobine précisément égale à celle de la méthémoglobine employée.

Hüfner et Richard Külz apportèrent bientôt une nouvelle preuve à l'appui de la dernière conception sur la constitution de l'hémoglobine.

Si l'on agite avec du bioxyde d'azote en excès une solution de méthémoglobine préalablement additionnée d'environ 1 % d'urée, il se forme de l'hémoglobine bioxyazotée dont le spectre est caractérisé par deux bandes d'absorption dans le

rouge. Dans la réaction du bioxyde d'azote sur la méthémoglobine, de l'oxygène est mis en liberté ; il oxyde le bioxyde d'azote, le transforme en peroxyde qui, au contact de l'eau, se décompose en acide azotique et azoteux. On peut déduire la quantité d'acide azoteux formé de la quantité d'urée décomposée, et pour calculer cette quantité il suffit de mesurer le volume d'azote dégagé. Toutefois, comme on ne connaît pas exactement la marche des réactions, on ignore le rapport qui existe entre la quantité d'oxygène détaché de la méthémoglobine et la quantité d'acide azoteux formé ou d'azote dégagé. Mais en prenant deux solutions dont l'une contient approximativement la même quantité d'oxyhémoglobine que l'autre de méthémoglobine, et les traitant toutes deux par le bioxyde d'azote et l'urée, Hüfner et Richard Külz constatèrent, dans deux séries d'expériences, qu'il se dégageait à peu près dans les deux cas la même quantité d'azote, ce qui démontre clairement pour eux que la quantité d'oxygène, séparé par le bioxyde d'azote de sa combinaison avec l'hémoglobine, est la même, qu'il s'agisse d'oxyhémoglobine ou de méthémoglobine. La combinaison est seulement plus stable dans le deuxième cas que dans le premier ; mais les auteurs ne donnent aucune notion sur la nature de cette combinaison.

Dans une étude sur l'action du ferricyanure de potassium sur le sang, von Mering démontre par une série d'expériences que si l'on ajoute à une solution sanguine du ferricyanure de potassium, il ne se produit pas toujours de la méthémoglobine. Il faut, pour que cette action ait lieu, que le sang ait été préalablement additionné d'eau, d'éther ou de chloroforme, ou encore qu'on l'ait congelé et dégelé, etc.; il faut, en un mot, que les globules sanguins aient été détruits et que leur matière colorante se soit dissoute dans le liquide ambiant. Une solution concentrée de ferricyanure de potassium, de même qu'une solution de sel de cuisine, de sulfate de soude, ajoutée à du sang

frais, n'altère nullement sa couleur et laisse subsister intactes les bandes de l'oxyhémoglobine. C'est que ces solutions n'attaquent pas les globules, elles les conservent. Le chlorate de potasse peut, pendant un certain temps, exercer la même action ; mais ce n'est là qu'un phénomène transitoire : il se forme bientôt de la méthémoglobine.

Hüfner indiqua, l'année suivante, un procédé pour préparer la méthémoglobine de chien cristallisée ; il détermina les constantes photométriques de solutions faiblement alcalines de ces cristaux. Il obtint enfin la méthémoglobine du sang de cheval cristallisée en employant le même procédé que pour le sang de chien.

Jæderholm fait connaître également un mode de préparation de la méthémoglobine cristallisée du sang de chien. Les cristaux qu'il obtient sont constitués par de longs prismes et des aiguilles ; le spectre d'absorption de leur solution est caractérisé par quatre bandes. L'auteur maintient, malgré la critique de Hoppe-Seyler, sa première manière de voir : la méthémoglobine est un peroxyde. Toutefois, dans une nouvelle communication, il se range aux idées de Otto, Hüfner et Külz, mais affirme l'exactitude des résultats de ses expériences, malgré les critiques de Hoppe-Seyler.

Jæderholm a examiné au microspectroscope les cristaux de la méthémoglobine du chien, et il a reconnu qu'ils présentaient exactement le même spectre que les solutions. Il a, du reste, déterminé les longueurs d'onde qui correspondent aux quatre bandes d'absorption des solutions acides de méthémoglobine et aux trois bandes des solutions alcalines. Jæderholm remarque, en outre, qu'une solution de méthémoglobine ordinaire à quatre bandes d'absorption peut, sous l'action d'un courant d'hydrogène chimiquement pur, prendre une coloration rouge et présenter le spectre à trois bandes de la méthémoglobine alcaline. Par agitation avec l'air, elle présente de

nouveau le spectre à quatre bandes. Une solution de méthémoglobine contenant seulement 0,02 °/₀ de carbonate de soude peut également être transformée en solution à quatre bandes d'absorption, par une agitation énergique avec l'air. L'auteur suppose, par suite, que la méthémoglobine à quatre bandes est plus riche en oxygène que celle à trois bandes, ou encore que la méthémoglobine cristalline contient de l'acide carbonique ou un acide volatil, dû à l'alcool employé à la préparer ; ces acides seraient déplacés par le courant d'hydrogène.

Tout récemment Kruckenberg fait un retour aux premières idées de Hoppe-Seyler sur la nature de la méthémoglobine ; il n'admet pas l'existence propre de cette substance et s'efforce de démontrer, principalement par la critique des travaux de Jæderholm, que la méthémoglobine, qu'il dote du nom d'*hoppéine,* sans doute pour spécifier qu'elle est un produit de l'imagination de Hoppe-Seyler, n'est qu'un mélange, en proportions variables, d'hématine, d'oxyhémoglobine et d'hémoglobine réduite.

A la même époque, Halliburton, plus confiant dans l'existence de la méthémoglobine, parvenait à en obtenir des cristaux avec du sang de différents animaux, par une méthode sur laquelle je reviendrai au chapitre suivant.

Enfin, Ewald observa que des cristaux d'oxyhémoglobine conservés dans une préparation microscopique se transformaient en hémoglobine, puis en méthémoglobine, ou directement en cette dernière substance.

D'autre part, on se livrait en France à des recherches plus physiologiques et l'on étudiait plutôt la production de la méthémoglobine dans l'organisme.

En 1884, Brouardel et P. Loye démontrent par une série d'expériences que la quantité des gaz normalement contenus dans le sang diminue sous l'influence de la kairine ; le

sang des animaux kairinisés absorbe moins d'oxygène que le sang normal de ces mêmes animaux. Ce sang, couleur sépia chez les animaux morts à la suite d'injection de kairine, présente à l'examen spectroscopique une bande d'absorption dans le rouge entre C et D, que Quinquaud appelle « bande d'absorption de la kairine ». Pour Morokhowetz, de Moscou, ce spectre, qui varierait avec la concentration de la solution de kairine, serait constitué par quatre bandes et ne serait autre que celui de la méthémoglobine.

Dans une première communication à l'Académie (*Comptes rendus,* mars 1884), Hayem établit par une série d'expériences que les corps qui transforment l'hémoglobine en méthémoglobine n'ont pas la même action sur l'hémoglobine dissoute et sur l'hémoglobine qui fait partie intégrante des globules ; cette dernière est plus résistante que la première ; de plus, l'hémoglobine dissoute, une fois transformée en méthémoglobine, reste dans cet état, tandis que l'hémoglobine des globules qui a subi cette modification reproduit, au bout de quelques heures, de l'hémoglobine capable de fixer de l'oxygène, pour former de l'oxyhémoglobine. Il résulte de là que les substances qui n'altèrent pas les hématies n'entraînent pas d'anémie notable.

Dans une deuxième communication (*Comptes rendus,* mars 1886), Hayem classe les substances qui font passer l'hémoglobine du sang à l'état de méthémoglobine en deux grandes classes, suivant qu'elles transforment en méthémoglobine l'hémoglobine du globule rouge, sans provoquer d'autres altérations des hématies ou du sang ou qu'elles forment de la méthémoglobine et altèrent plus ou moins complètement les globules. La méthémoglobine produite par les substances de la première classe (nitrite d'amyle, chlorhydrate de kairine), est rapidement réduite dans l'organisme ; celle produite par les substances de la deuxième classe (nitrite de sodium,

chlorates, ferricyanures, etc.), est définitive, en ce sens qu'elle ne peut plus se transformer en hémoglobine. Elle se détruit en formant, en particulier, de l'urobiline; quand la méthémoglobine existe dans l'organisme en proportion suffisante, elle peut être éliminée en nature, en produisant de la méthémoglobinurie.

La dépression de température produite par certains antithermiques qui provoquent la formation de méthémoglobine, ne peut nullement être attribuée à cette modification de l'hémoglobine.

En 1885, Quinquaud communiquait à la Société de biologie une série d'expériences relatives à l'action de l'acide pyrogallique sur le sang, à la désoxygénation que cet agent lui fait subir et à la transformation d'oxyhémoglobine en méthémoglobine que l'on peut observer chez des animaux soumis à des doses variables de cet acide.

Enfin, dans un article paru dans la *Revue Scientifique*, du 5 juin 1886, Hayem fait une étude assez complète de la méthémoglobine d'origine médicamenteuse. Il a recours dans ses recherches au spectroscope, comme seul moyen pratique et expéditif de reconnaître la méthémoglobine, et il fait remarquer, à cet égard, que l'on peut facilement, grâce à cet instrument, déterminer la présence de traces de méthémoglobine, lorsque celle-ci a été mise en liberté et dissoute dans le sérum, tandis que, si elle se forme dans le globule sanguin, on pourra observer sa bande caractéristique seulement lorsque sa proportion atteindra environ 10 °/₀ de la matière colorante du sang.

Le sang normal, même fortement asphyxique, ne contient pas de méthémoglobine; si donc il s'en produit à l'état physiologique dans l'organisme, elle est immédiatement réduite, puisqu'on ne peut y déceler sa présence.

Dans la fièvre hématurique et dans l'hémoglobinurie paroxystique les urines des malades sont souvent couleur café et ont fré-

quemment présenté au spectroscope les bandes caractéristiques de la méthémoglobine. Si l'on examine le sang de malades atteints d'hémoglobinurie, il ne présente que les bandes de l'oxyhémoglobine. « La méthémoglobine peut donc prendre naissance aux dépens de l'hémoglobine, dans les voies urinaires, sans être préformée dans le sang. »

CHAPITRE II

MODES DE FORMATION DE LA MÉTHÉMOGLOBINE. — SA PRÉPARATION A L'ÉTAT CRISTALLIN. — SES PROPRIÉTÉS. — SON SPECTRE. — SES COMPOSÉS. — SA CONSTITUTION.

Modes de formation de la méthémoglobine. — La méthémoglobine est un produit de décomposition spontanée de l'oxyhémoglobine. On a trouvé cette substance dans des foyers anciens d'extravasation sanguine, dans certains liquides de kystes, dans les tumeurs de l'ovaire, dans les liquides pathologiques de la vessie, dans les taches de sang anciennes.

Des solutions d'oxyhémoglobine dans l'alcool peu concentré renferment, au bout d'un certain temps, de la méthémoglobine, si on les abandonne à elles-mêmes.

Il se produit de la méthémoglobine quand on dissout dans de l'eau à 20° ou 30° des cristaux d'oxyhémoglobine, afin d'obtenir une seconde cristallisation. La méthémoglobine augmente la solubilité des cristaux d'oxyhémoglobine ; on ne peut débarrasser complètement ces derniers du nouveau produit, qui leur donne une couleur moins vermeille que celle qu'ils présentent à l'état de pureté.

Une solution concentrée de cristaux d'oxyhémoglobine desséchée au delà de 100° présente bientôt le spectre caractéristique de la méthémoglobine ; cette transformation se produit très rapidement si l'on dessèche dans le vide ; ou encore si on laisse sécher à l'air un papier filtré imbibé d'une telle

solution. Aussi peut-on remarquer que lorsqu'on filtre des solutions sanguines, les bords du filtre se colorent en brun ; cette coloration est due à la méthémoglobine.

Quand on ajoute à des solutions d'oxyhémoglobine de faibles quantités d'acides dilués, il se forme de la méthémoglobine ; avec des acides concentrés, on obtient de l'hématine et une matière albuminoïde.

La méthémoglobine se produit également par l'action de faibles quantités de bases sur les solutions d'oxyhémoglobine.

Toutes les substances oxydantes agissant en solution neutre ou faiblement alcaline transforment rapidement l'hémoglobine ou l'oxyhémoglobine en méthémoglobine. Telles sont : l'ozone, le permanganate de potassium, le ferricyanure de potassium et de sodium, le chlorate de potassium et de sodium, l'hypochlorite de potassium et de sodium, le nitrite de potassium et de sodium, le nitrite d'amyle, le nitrite d'éthyle, le nitrate d'argent, l'oxyde rouge de manganèse, l'iode dissous dans l'iodure de potassium, l'iode en solution aqueuse, le chlore, le brome.

Je vais revenir successivement sur le mode d'action de certaines de ces substances.

Gamgee, qui avait observé le premier la modification subie par le sang sous l'influence des nitrites, avait cru qu'il se formait dans ces circonstances, non pas de la méthémoglobine, mais bien une combinaison de l'acide nitreux avec l'hémoglobine, combinaison à laquelle il donna le nom de : « *Nitrithæmoglobin* ». Du reste, dans l'action des nitrites sur l'oxyhémoglobine, il ne se formerait pas seulement de la méthémoglobine, mais bien aussi de l'hématine (Hoppe-Seyler).

Toujours à propos de l'action des nitrites, Sorby fait observer que le nitrite de potassium n'agit pas sur le sang en solution alcaline, c'est-à-dire par exemple en présence d'un excès d'ammoniaque ; il agit au contraire sur le sang neutre, et

la transformation de l'oxyhémoglobine en méthémoglobine est plus rapide, si le sang contient un léger excès d'un acide faible comme l'acide borique, ou mieux encore d'un acide un peu plus énergique, tel que l'acide benzoïque.

A propos de l'action des chlorates sur les solutions sanguines, Marchand fait remarquer que la transformation complète de l'oxyhémoglobine en méthémoglobine exige plus de temps à la température ordinaire qu'à une température un peu plus élevée, 35° à 40°.

Cette transformation s'accomplit presque instantanément, au contraire, avec l'iode, le permanganate de potasse, le ferricyanure de potassium ou d'autres moyens puissants d'oxydation.

Le chlore et le brome agissent plus énergiquement que l'iode ; aussi faut-il procéder avec précaution quand on emploie ces agents.

Avec l'iode en excès on obtiendrait toujours, d'après Marchand, un nouveau produit d'oxydation ; il se formerait en effet un précipité peu de temps après l'emploi de ce réactif, et le liquide filtré présenterait un spectre constitué par deux bandes dont la position serait à peu près la même que celle des bandes de l'oxyhémoglobine ; le nouveau produit serait plus oxydé que la méthémoglobine ; il présenterait comme elle une modification acide et une modification alcaline, mais n'aurait pas sous ce dernier état de spectre caractéristique. On pourrait le transformer en le traitant par des agents réducteurs en hémoglobine, qui, en présence de l'oxygène de l'air, repasserait à l'état d'oxyhémoglobine.

Mais il est encore à signaler d'autres modes de production de la méthémoglobine ; c'est ainsi qu'elle se produirait sous l'influence de certains agents réducteurs. Une lame de palladium chargée d'hydrogène transforme, à l'abri de l'air atmosphérique ou de l'oxygène, une solution d'oxyhémoglobine en

méthémoglobine. Dans ce cas, l'hydrogène occlus par le palladium enlèverait à l'oxyhémoglobine une molécule d'oxygène O^2 dont un atome O serait employé pour former une molécule d'eau H^2O, tandis que l'atome rendu libre se porterait sur l'hémoglobine réduite pour former de la méthémoglobine.

La pyrocatéchine, l'hydroquinone en solution à 1 p. 100, l'acide pyrogallique à 0,5 p. 100, la résorcine, ont une action analogue à celle du palladium hydrogéné. Toutefois, si l'on fait l'expérience avec la résorcine, il sera nécessaire de l'employer en plus grande quantité que les autres substances.

Le sulfate ferreux transforme de même l'oxyhémoglobine en méthémoglobine.

Sous l'influence de la putréfaction à l'air libre, l'oxyhémoglobine passe à l'état de méthémoglobine.

Il se produit encore de la méthémoglobine lorsque l'on traite une solution d'hémoglobine oxycarbonée par du chlorate de potasse, de l'ozone, de la résorcine, ou mieux, de l'iode dissous dans une solution d'iodure de potassium, du permanganate de potassium, de la pyrocatéchine, du pyrogallol, de l'hydroquinone. Seulement la transformation de l'hémoglobine oxycarbonée exige plus de temps ou de plus fortes doses de réactif que celle de l'oxyhémoglobine.

On peut encore transformer de l'oxyhémoglobine en méthémoglobine par la térébenthine, la kairine et la thalline.

Si l'on fait passer un courant d'acide carbonique pendant une heure à travers une solution étendue d'oxyhémoglobine, on voit disparaître les deux bandes de l'oxyhémoglobine et apparaître deux bandes, une dans le rouge occupant la position de la bande correspondante de la méthémoglobine, l'autre dans le bleu, qui ferait aussi partie du spectre de cette dernière substance. Si l'on fait passer le courant d'acide carbonique dans une solution concentrée d'oxyhémoglobine, on obtient un spectre à quatre bandes dû à un mélange d'oxyhémoglobine et de

méthémoglobine (Lancaster). Il est nécessaire, dans ce cas, que la durée du passage du courant soit assez longue (huit heures environ).

Si l'on fait traverser une solution d'hémoglobine par un courant d'hydrogène arsénié ou d'hydrogène sulfuré, il ne se produit pas de décomposition ou tout au moins il ne s'en produit qu'au bout de quelques jours ; mais si l'on opère, de même, avec une solution d'oxyhémoglobine, cette solution est bientôt altérée et présente au spectroscope une bande d'absorption dans le rouge qui paraît occuper la même position que celle de la méthémoglobine (Hoppe-Seyler).

Il faut toutefois remarquer, à propos de l'action de l'hydrogène sulfuré sur l'oxyhémoglobine, que le corps qui prend naissance dans cette circonstance n'est probablement pas de la méthémoglobine comme on l'avait cru d'abord, mais bien un sulfure d'hémoglobine ou d'hématine, soit même de méthémoglobine, comme l'admit plus tard Hoppe-Seyler. Ce corps se distingue en effet de l'hématine et de la méthémoglobine par ses apparences spectrales ; il présente sans doute une bande d'absorption dans le rouge ; mais cette bande est située plus près du jaune que celle de l'hématine ou de la méthémoglobine en solution acide, et de plus cette bande persiste alors même qu'on ajoute aux solutions qui la présentent, de l'ammoniaque et du sulfure ammonique. Nous verrons, à propos des propriétés de la méthémoglobine, comment elle se comporte sous l'influence des deux mêmes réactifs.

D'après Gamgee, il se produirait sous l'action du bioxyde d'azote, une substance qui présenterait le spectre de la méthémoglobine acide et qui, après l'addition d'ammoniaque, donnerait celui de la méthémoglobine alcaline. Toutefois, ajoute l'auteur, il serait fort possible que le bioxyde d'azote se fût transformé en acide nitreux en s'emparant de l'oxygène de l'oxyhémoglobine ; la transformation de la matière colorante du

sang serait alors due à l'acide nitreux, et c'est aussi à cet acide qu'il faudrait attribuer l'action des nitrites. J. Otto nie cette action du bioxyde d'azote et fait remarquer à ce propos un fait déjà connu, c'est que, si l'on fait agir sur le sang du bioxyde d'azote, il se forme de l'hémoglobine bioxyazotée, lorsqu'on a eu soin de débarrasser le gaz de l'acide nitreux qu'il pourrait entraîner.

Enfin Lewin a constaté que par l'action du nitrobenzol de l'orthonitrophénol, du binitrobenzol de l'éther éthylique, du formiate d'éthyle, de l'acétone, du sulfure de carbone sur le sang, il se produit une modification telle que ce sang examiné au spectroscope présenterait, outre les deux bandes d'absorption de l'oxyhémoglobine, une bande dans le rouge qui ne coïncide pas avec celle de l'hématine pure ; s'est-il donc formé dans ces conditions de la méthémoglobine? Tel n'est pas l'avis de Lewin, qui fait observer que la bande de l'hématine pure, n'occupe pas la même position que celle d'une solution d'hématine contenant de l'albumine et que la bande qui apparaissait dans le rouge après l'action des corps mentionnés ci-dessus, coïncidait exactement avec celle d'une solution sanguine traitée avec précaution par un acide dilué. Du reste, ajoute le même auteur, si l'on rend alcaline la solution de sang nitrobenzolé, la bande dans le rouge se déplace vers D ; de plus, le sang additionné de nitrobenzol, traité par l'ammoniaque et le sulfure ammonique, présentait les bandes caractéristiques de l'hématine réduite ou de l'hémochromogène. Il est cependant possible que l'auteur se soit laissé tromper par quelque apparence, et Marchand, qui a observé après lui que dans l'empoisonnement par le nitrobenzol il se forme dans le sang de la méthémoglobine, combat ses assertions.

Préparation de la méthémoglobine cristallisée. — Dès 1867, Gamgee prétendit avoir préparé des cris-

taux de cette substance qu'il avait obtenue en solution par l'action de certains nitrites sur le sang, et qu'il considéra d'abord comme un produit d'oxydation de la matière colorante du sang moins élevé que l'oxyhémoglobine et plus tard comme un nitrite d'hémoglobine. Voici le procédé indiqué par Gamgee :

On laisse coaguler du sang de chien, on sépare le sérum, on exprime le caillot dans un linge, on additionne le liquide qui s'en écoule d'une fois et demie son volume d'eau, et on lui ajoute une solution de nitrite de sodium, jusqu'à ce que le mélange, examiné au spectroscope, présente le spectre caractéristique. On additionne alors le liquide de un quart de son volume d'alcool à 86°. Il se dépose bientôt des aiguilles et des prismes, ne différant pas par leur forme de ceux de l'oxyhémoglobine, mais qui s'en distinguent par leur couleur brun sale et par les bandes d'absorption du spectre de leur solution. Ces cristaux, recueillis sur un papier filtre, furent lavés avec de l'eau à 0° et redissous ensuite dans une grande quantité d'eau ; mais on ne put les dissoudre complètement ; il resta comme résidu une substance albuminoïde, ce qui permet de mettre en doute que Gamgee ait réellement obtenu des cristaux de méthémoglobine (ou tout au moins qu'il ait obtenu ces cristaux à l'état de pureté).

En 1883, J. Otto essaya vainement de préparer des cristaux de méthémoglobine avec du sang de chien par le procédé de Gamgee, et réussit pourtant, dit-il, à en obtenir, mais en très faible quantité, en traitant par ce procédé du sang de porc.

Dès 1882, Hüfner et Otto avaient indiqué une autre méthode qui permettait de préparer des cristaux de méthémoglobine en quantité notable. Ils étaient arrivés à ce résultat après avoir obtenu accidentellement de pareils cristaux avec des solutions d'oxyhémoglobine de sang de porc cristallisée qu'ils avaient soumises à une nouvelle cristallisation. Voici du reste le résumé de leurs expériences :

Si l'on additionne du sang de porc frais défibriné avec une solution aqueuse de chlorhydrate de quinoléine, qu'on ajoute à ce mélange de l'alcool absolu et qu'on maintienne le tout pendant huit jours à une température inférieure à 0°, on obtient de beaux cristaux rouge vermeil d'oxyhémoglobine.Ces cristaux, recueillis sur un papier filtre et lavés à l'alcool étendu de quatre fois son volume d'eau, étaient dissous dans un peu d'eau ; on ajoutait à la solution le quart de son volume d'alcool et on la laissait séjourner ensuite pendant plusieurs jours dans un mélange réfrigérant, afin d'obtenir une nouvelle cristallisation de l'oxyhémoglobine. Le plus souvent il ne se formait pas dans ces conditions des cristaux rouge clair, mais bien, au bout de huit à quatorze jours seulement, une bouillie d'une couleur brun sale, d'aspect satiné ; et les auteurs reconnurent que cette bouillie était constituée par de fines aiguilles cristallines. Ces cristaux se redissolvaient lentement dans le liquide (eau et alcool), quand on les laissait revenir à la température de la chambre ; ils étaient facilement solubles dans l'eau pure et communiquaient à la solution une couleur brune. Si on les dissolvait au contraire dans un liquide alcalin, la dissolution était rapide et le liquide avait une coloration rouge ; les solutions présentaient les spectres caractéristiques de la méthémoglobine. On peut faire recristalliser ces cristaux après les avoir dissous ; pour y parvenir, il suffit de porter cette bouillie sur un filtre sans plis dans une enceinte de glace. Au bout de douze heures environ, les aiguilles cristallines sont séparées des eaux-mères, on les lave avec un mélange froid de une partie d'alcool pour trois d'eau, puis on les dissout dans aussi peu d'eau que possible, à 40° environ ; on refroidit à 0 ; on ajoute le quart du volume d'alcool absolu froid, et on laisse séjourner le tout pendant un ou deux jours dans de la glace. Au bout de ce temps, il se sépare de nouveaux cristaux gris brun un peu fauve, plus gros que les premiers. On peut les réunir sur un papier filtre, les laver

avec un mélange refroidi de une partie d'alcool pour trois d'eau, les sécher et les analyser.

Les auteurs s'occupèrent alors de trouver un procédé qui permît d'obtenir ces cristaux de méthémoglobine d'une façon plus certaine et plus rapide; ils y réussirent comme suit: ils ajoutèrent à une solution concentrée d'oxyhémoglobine récemment préparée, et préparée à chaud, un peu de ferricyanure de potassium. (Pour un demi-litre d'une solution d'oxyhémoglobine, il suffit d'un ou deux petits cristaux de la grosseur d'un grain d'orge). La couleur rouge clair de la solution devint alors brun sale, et l'on put, par l'addition d'alcool et par l'exposition au froid comme je l'ai indiqué ci-dessus, séparer au bout d'un ou plusieurs jours les cristaux de méthémoglobine.

En 1884, Hüfner indiqua un procédé analogue pour obtenir de la méthémoglobine cristallisée avec du sang de chien ou de cheval. Pour cela, on prépare une solution d'oxyhémoglobine aussi concentrée que possible (le mieux est d'employer de l'eau tiède comme dissolvant); puis on ajoute à cette solution un peu de ferricyanure de potassium (environ 3 à 4 cent. cubes de solution concentrée de ce dernier pour un litre de la solution d'oxyhémoglobine); on agite énergiquement le mélange; on le porte à 0° et on lui ajoute un quart de son volume d'alcool refroidi au moins à 0°; enfin on place le tout dans un mélange réfrigérant. Au bout de un à deux jours, il se dépose une grande quantité de cristaux bruns ayant la forme d'aiguilles, et présentant à peu près les dimensions de celles de l'oxyhémoglobine; ces aiguilles sont des cristaux de méthémoglobine.

Hammarsten a obtenu des cristaux de méthémoglobine avec du sang de cheval en ajoutant à une solution d'oxyhémoglobine un peu de ferricyanure de potassium et de l'alcool. Les cristaux étaient constitués par des prismes rouges grenat réguliers, hexagonaux, ayant un millimètre de diamètre ou plus.

La même année qu'Hüfner, Jæderholm réussit aussi à pré-

parer de la méthémoglobine cristallisée avec le sang de chien par un procédé qui ne diffère guère de celui de Hüfner. Voici en quoi il consiste : on laisse du sang de chien se coaguler dans un endroit frais ; au bout de douze à vingt-quatre heures, le caillot est formé, on le divise en de très petits morceaux, que l'on porte sur un filtre, et qu'on lave alors à l'eau distillée refroidie à 0 jusqu'à ce que le liquide filtré ne donne plus qu'un faible précipité avec le bichlorure de mercure. La matière colorante est alors dissoute dans de l'eau distillée, à 35°-40° ; la solution concentrée ainsi obtenue est agitée avec des cristaux de ferricyanure. On examine au spectroscope si toute l'oxyhémoglobine est transformée en méthémoglobine ; s'il n'en était pas ainsi, il faudrait ajouter encore du ferricyanure jusqu'à ce que l'on obtienne ce résultat. On ajoute ensuite un volume d'alcool concentré pour six volumes de la solution de méthémoglobine et on place le tout dans un mélange réfrigérant ; on obtient au bout de quelque temps une cristallisation abondante, on lave les cristaux par décantation avec de l'alcool étendu de quatre ou cinq fois son volume d'eau ; les cristaux ainsi obtenus ont la même forme que ceux de l'oxyhémoglobine ; ils sont constitués par de fines aiguilles et de longs prismes de un demi-millimètre ou plus. Ils présentent en solution le spectre d'absorption de la méthémoglobine.

Enfin, tout récemment, Halliburton a également obtenu des cristaux de méthémoglobine avec du sang de différents animaux. Il agitait quelques centimètres cubes de sang défibriné avec quelques gouttes de nitrite d'amyle ; le mélange prenait alors une teinte acajou ; il en étendait une couche mince sur une lamelle porte-objet et la recouvrait d'une autre lamelle ; il se formait en quelques secondes une abondante cristallisation. Halliburton a préparé ainsi des cristaux de méthémoglobine avec du sang de cobaye, d'écureuil, de rat et a constaté qu'ils étaient constitués dans le premier cas par des tétraèdres, dans

le second et le troisième par un mélange d'une grande quantité de lamelles à six faces avec des prismes rhomboïdaux en moins grand nombre.

Propriétés de la méthémoglobine. — La méthémoglobine est soluble dans l'eau ; 100 centimètres cubes d'eau à 0° en dissolvent 5 gr., 851 ; elle est insoluble dans l'alcool et dans l'éther. Les cristaux de méthémoglobine sont plus difficilement solubles que ceux d'oxyhémoglobine et paraissent plus stables. La puissance colorante de la méthémoglobine est moindre que celle de l'oxyhémoglobine.

Les cristaux de méthémoglobine du sang de chien ont la même forme que ceux de l'oxyhémoglobine ; ce sont des aiguilles et de longs prismes de un demi-millimètre ou plus. Hammarsten aurait obtenu des cristaux de méthémoglobine de cheval, constitués par des prismes rouge grenat réguliers, hexagonaux, de un millimètre de diamètre ou au dessus ; ceux de la méthémoglobine du porc seraient des aiguilles brunes un peu fauves. Nous venons de voir que ceux du sang de cobaye auraient, d'après Halliburton, la forme de tétraèdres et que ceux du sang d'écureuil et de rat seraient constitués par des lamelles à six faces et des prismes rhomboïdaux. Les cristaux de méthémoglobine du sang de chien ont été étudiés par Jæderholm ; ils jouissent de la double réfraction ; si on les place entre deux nicols croisés après interposition d'une lame de gypse orientée à 45°, ils présentent une coloration bleue ou jaune, suivant que leur axe est parallèle ou perpendiculaire à la section principale du gypse.

Hüfner et Otto ont pu sécher les cristaux de méthémoglobine du sang de porc ; ils les ont portés à 115°, ont constaté qu'ils dégageaient alors 12 $^{0}/_{0}$ d'eau et les ont soumis à l'analyse ; ils ont trouvé ainsi les nombres suivants :

C = 53,99 °/₀	H = 7,13 °/₀	Az = 16,19 °/₀
S = 0,66 °/₀	Fe = 0,449 °/₀	O = 21,58 °/₀

Les mêmes auteurs ont également déterminé les constantes photométriques A_m A'_m de la méthémoglobine du porc, et ils ont trouvé qu'elles avaient pour les régions spectrales où celles de l'oxyhémoglobine sont $A_o = 0{,}01345$, $A'_o = 0{,}001014$, c'est-à-dire dans les régions D 32 E — D 53 E et D 63 E — D 84 E, les valeurs 0,002602 et 0,001990.

Les cristaux de méthémoglobine se dissolvent facilement dans les solutions alcalines, même extrêmement étendues.

La méthémoglobine est également soluble dans les acides étendus.

Les solutions aqueuses ont une couleur jaune rougeâtre quand elles sont diluées, rouge brun quand elles sont concentrées. Elles sont assez stables ; toutefois, par un long repos, il se sépare un précipité ; mais le liquide filtré présente néanmoins le spectre de la méthémoglobine. Après un repos encore plus long, ses solutions se décomposent, prennent une couleur brun verdâtre et une consistance gélatineuse.

Les solutions de méthémoglobine se coagulent par la chaleur ; la matière colorante est complètement précipitée ; il se produit de l'hématine.

Une solution de méthémoglobine n'est point modifiée si on l'agite à l'air, si on la place dans le vide ou si on la fait traverser par un courant d'oxyde de carbone.

Les solutions aqueuses de méthémoglobine sont légèrement acides au papier. On y trouve constamment des acides organiques tels que : acide formique, butyrique et un autre, qui ne paraît pas être l'acide lactique, mais dont on n'a pu déterminer la nature. Ces acides sont peut-être dus à la décomposition de l'hémoglobine (Hoppe-Seyler).

Les solutions alcalines de méthémoglobine ont une couleur franchement rouge et présentent un spectre distinct de celui

des solutions aqueuses ou acides. Une solution aqueuse brune devient rouge et présente le spectre de la méthémoglobine alcaline, si on l'additionne de quelques gouttes d'ammoniaque; de même si l'on fait agir sur elle du bioxyde d'azote pur.

Jæderholm a constaté que, si l'on fait passer à travers une solution de méthémoglobine présentant le spectre à quatre bandes de la méthémoglobine acide, un courant d'hydrogène pur, cette solution prend peu à peu une coloration rouge et présente bientôt le spectre de la méthémoglobine alcaline; ce phénomène se produit alors même que l'hydrogène est passé à travers un tube à boule rempli d'acide sulfurique, ce qui prouve bien qu'il n'est point dû à quelque corps alcalin mécaniquement entraîné. Il est même nécessaire que l'hydrogène soit aussi pur que possible et ne renferme pas trace de substance réductrice, qui, en provoquant une réduction partielle, troublerait le résultat de l'expérience. Vient-on à agiter énergiquement avec de l'air la solution modifiée par le courant d'hydrogène, on réussit souvent à la faire redevenir brune et à lui faire ainsi présenter de nouveau le spectre à quatre bandes. — On peut aussi, par l'agitation énergique à l'air, transformer en solution à quatre bandes d'absorption une solution de méthémoglobine contenant 0,02 $^{0}/_{0}$ de carbonate de soude.

Pour expliquer ces phénomènes, on pourrait supposer, dit Jæderholm, que la méthémoglobine ordinaire à quatre bandes est un peu plus riche en oxygène que celle à trois bandes, ou qu'elle contient de l'acide carbonique ou quelque acide volatil provenant de l'alcool employé pour la production de la méthémoglobine acide et qui serait déplacé par le courant d'hydrogène. Mais l'auteur ne peut rien conclure de certain et se borne à faire part de ses observations. — Nous avons vu que les solutions aqueuses de méthémoglobine sont toujours légèrement acides, à cause de la présence d'acides gras, pour la plupart très

volatils; ne pourrait on admettre que ces acides sont déplacés par le courant d'hydrogène et que, lorsqu'on agite à l'air une solution de méthémoglobine contenant du carbonate de soude, la transformation de cette méthémoglobine en méthémoglobine acide doit être attribuée à l'acide carbonique de l'air ?

La méthémoglobine en solution alcaline ou acide se transforme en hémoglobine, lorsqu'on lui ajoute du sulfure ammonique, ou de l'ammoniaque et du liquide de Stockes, ou de l'hydrosulfite de sodium neutralisé. Cette hémoglobine, au contact de l'air, repasse à l'état d'oxyhémoglobine; c'est là un des caractères les plus saillants de la méthémoglobine, caractère qui permet de la distinguer de l'hématine. Celle-ci, en effet, en solution neutre ou légèrement alcaline, est transformée par les agents réducteurs en hémochromogène. Un autre caractère distinctif de ces deux substances consiste dans la solubilité de la méthémoglobine dans l'eau, l'hématine n'étant soluble dans l'eau qu'en présence d'un corps alcalin (Hoppe-Seyler). Enfin un autre caractère distinctif consiste dans les apparences spectroscopiques que j'étudierai tout à l'heure.

Si on laisse de la méthémoglobine se putréfier à l'abri de l'oxygène de l'air, elle se transforme en hémoglobine comme sous l'influence des agents réducteurs. Si l'on opère avec de la méthémoglobine de chien et de cheval, on peut obtenir de cette sorte, au bout de quelques mois, dans des tubes scellés à la lampe, une transformation complète de la méthémoglobine en hémoglobine. On peut transformer cette hémoglobine en oxyhémoglobine, que l'on peut ensuite faire cristalliser. Mais il est toutefois nécessaire de prendre quelques précautions ; car, lors de l'accès de l'air dans les tubes, il se reformerait de la méthémoglobine en quantité notable ; aussi faut-il refroidir fortement et ajouter de l'alcool pour séparer l'oxyhémoglobine à mesure qu'elle se forme.

Le sous-acétate de plomb précipite la méthémoglobine ; le

précipité est soluble dans un excès de réactif (Hoppe-Seyler). Preyer prétend au contraire que les solutions de méthémoglobine ne sont point précipitées par le sous-acétate de plomb.

Le nitrate d'argent, le chlorure mercurique, précipitent également la méthémoglobine.

Sous l'action des acides ou de corps alcalins énergiques, la méthémoglobine est décomposée en hématine et en une matière albuminoïde. On obtient par exemple de l'hématine en chauffant une solution de méthémoglobine avec de l'ammoniaque, ou en la traitant par une lessive concentrée de potasse caustique.

La poudre de zinc et l'amalgame de sodium peuvent aussi décomposer la méthémoglobine ; il se forme dans ces cas des substances incolores que l'on peut obtenir à l'état cristallin. La réaction marche plus vite et mieux avec la poudre de zinc ; si après l'addition de cette poudre on évapore la solution décolorée, on obtient des cristaux d'une substance renfermant du zinc et une matière organique. La forme de ces cristaux rappelle un peu celle de l'urée. Les cristaux que l'on obtenait dans les mêmes conditions avec l'amalgame de sodium avaient probablement une constitution analogue, mais contenaient du sodium au lieu de zinc. Les corps qui s'étaient formés dans ces circonstances étaient sans doute des sels de sodium ou de zinc et de quelque acide organique (J. Otto).

Spectre de la méthémoglobine. — La méthémoglobine présente deux spectres différents, suivant la modification sous laquelle on la considère. Je vais d'abord étudier le spectre de la modification acide.

Les auteurs sont loin d'être d'accord sur les apparences spectrales de la méthémoglobine acide.

D'après Hoppe-Seyler, le spectre de la méthémoglobine acide serait constitué par une bande unique d'absorption dans

le rouge entre C et D. Si des solutions de méthémoglobine présentent, outre la bande dans le rouge, deux bandes entre D et E, c'est que ces solutions contiennent un mélange d'oxyhémoglobine et de méthémoglobine ; plus la proportion de méthémoglobine est forte dans la solution, plus la bande dans le rouge est intense et plus les deux bandes de l'oxyhémoglobine s'atténuent.

Pour Marchand, la méthémoglobine acide est caractérisée par une bande d'absorption unique dans le rouge ; cette bande ressemble beaucoup à celle de l'hématine acide, mais n'occupe pas exactement la même position : elle est un peu plus rapprochée du vert; avec des solutions étendues le reste du spectre n'est pas modifié ; avec des solutions concentrées tous les rayons sont éteints jusqu'au rouge.

Lancaster admet que le spectre de la méthémoglobine est constitué par deux bandes : une dans le rouge et une dans le bleu entre *b* et F ; quand la solution n'est pas pure, qu'elle contient un peu d'oxyhémoglobine, les deux spectres se superposent et forment un spectre à quatre bandes : si l'on fait passer pendant huit heures un courant d'acide carbonique à travers une solution concentrée d'oxyhémoglobine, on obtient un mélange d'oxyhémoglobine et de méthémoglobine qui donne un spectre à quatre bandes ; mais, si par l'addition d'un peu d'acide acétique étendu on transforme l'oxyhémoglobine non encore décomposée en méthémoglobine, le liquide ne présente plus que deux bandes d'absorption. Il ne se serait pas formé ici, d'après le même auteur, de l'hématine, puisque l'on pouvait par réduction retransformer toute la matière colorante en hémoglobine.

Henninger considère le spectre de la méthémoglobine comme présentant trois bandes d'absorption. D'après Henninger on observe, lorsqu'on examine une solution aqueuse de cette substance, « une bande très nette dans le rouge entre C

et D, un peu plus près de C ; à partir de D ; tout le spectre est sombre ; mais par la dilution on voit apparaître une bande très peu foncée entre D et E, tout près de D ; puis un peu avant E, l'intensité lumineuse commence de nouveau à décroître et atteint avant F un minimum limitant une large bande très foncée qui se détache assez bien sur le fond sombre du spectre ; vers la raie F, enfin, on observe une faible éclaircie bleue, les radiations indigo et violettes étant totalement absorbées. » Si à ce spectre vient se superposer celui de l'oxyhémoglobine, on aura le spectre à quatre bandes que présentent les mélanges de méthémoglobine et d'oxyhémoglobine ; car la première bande de l'oxyhémoglobine viendra recouvrir la deuxième de la méthémoglobine ; mais si l'on prépare la méthémoglobine en oxydant de l'hémoglobine réduite, on ne verra jamais, pendant la transformation, que le spectre à trois bandes, les deux bandes de l'oxyhémoglobine ne pourront s'observer à aucun moment. — Il faut remarquer toutefois qu'il est d'abord bien difficile d'obtenir de la méthémoglobine en oxydant de l'hémoglobine réduite, sans produire simultanément de l'oxyhémoglobine, et que, en outre, le spectre décrit par Henninger n'a jamais été observé que par lui.

Sorby attribue quatre bandes au spectre de la méthémoglobine acide, et fait remarquer à ce propos que la position de la bande, dans le rouge, de l'hématine acide peut varier d'une étendue notable avec le degré d'acidité et que, par suite, la position de la bande, dans le rouge, de la méthémoglobine ne peut suffire pour caractériser cette substance. Marchand a, lui aussi, observé ce déplacement de la bande de l'hématine acide suivant l'acide employé. C'est ainsi qu'il donne les positions suivantes :

Hématine acétique	83-90
Hématine chlorhydrique	81-88

(La raie D correspondait à la division 100 de son micromètre, C à 85,5).

Preyer considère également le spectre de la méthémoglobine acide comme formé de quatre bandes. Mais, d'après la description que donne Preyer de ce spectre, il n'est pas bien certain qu'il ait eu devant les yeux, au moment où il l'a dépeint, de la méthémoglobine pure.

Pour Jæderholm la méthémoglobine acide a un spectre constitué par quatre bandes d'absorption ; ce spectre est assez analogue à celui de l'hématine acide et ne s'en distingue que faiblement par la position de la bande dans le rouge, position variable, du reste, pour les solutions d'hématine avec le degré d'acidité. Jæderholm a examiné au microspectroscope des cristaux de méthémoglobine, et a constaté la présence des quatre bandes dans le spectre qu'ils fournissaient ; il a aussi déterminé la position de ces bandes avec des solutions de ces cristaux. Voici, d'après cet auteur, les longueurs d'onde correspondant aux milieux de chacune d'elles :

Bande I	dans le rouge,	631	millionièmes de millim.	
Bande II	dans le vert,	580	—	
Bande III	dans le vert,	539	—	
Bande IV	dans le bleu,	500	—	environ.

La position de cette dernière bande n'a pu être déterminée d'une façon tout à fait exacte. La première de ces bandes est la plus foncée, la seconde est la plus pâle, la deuxième est plus large que la première, la troisième l'est plus que la deuxième et la quatrième que la troisième.

La seule objection que l'on pourrait faire à Jæderholm, c'est qu'il n'est pas certain que ses cristaux de méthémoglobine fussent absolument purs d'oxyhémoglobine, puisque les deux substances sont isomorphes et cristallisent dans des conditions identiques ; sans doute Jæderholm recommande pour préparer

les cristaux de méthémoglobine d'ajouter à la solution d'oxyhémoglobine assez de ferricyanure pour opérer la transformation complète, et d'examiner au spectroscope s'il en est réellement ainsi; mais à quoi reconnaît-il qu'il ne reste plus d'oxyhémoglobine dans sa solution, puisqu'il admet que le spectre de la méthémoglobine présente les deux bandes entre D et E?

Etudions maintenant le spectre de la modification alcaline de la méthémoglobine ; ce spectre est caractéristique et diffère notablement de celui de l'hématine en solution alcaline.

Le spectre de l'hématine alcaline est constitué par une large bande qui ne possède pas une position tout à fait invariable ; elle se déplacerait en effet, d'après Jæderholm, un peu vers le vert, à mesure que l'alcalinité de la solution augmenterait ; cette bande à cheval sur la raie D présente toutefois sa partie la plus étendue et la plus sombre avant D, je veux dire du côté du rouge par rapport à D.

D'après la plupart des auteurs, le spectre de la méthémoglobine est constitué par trois bandes, l'une dans l'oranger, entre C et D près de D, les deux autres entre D et E, occupant presque complètement la position des bandes α et β de l'oxyhémoglobine. Le milieu de la première bande correspond, d'après Jæderholm, à une longueur d'onde de 602 millionièmes de millimètre, le milieu de la deuxième à 578 et celui de la troisième à 539. Marchand donne de ce spectre une description peu différente ; le spectre de la méthémoglobine alcaline, dit-il, est constitué par deux bandes : la première située entre les divisions 94 et 105 du micromètre de son spectroscope (D=100), la deuxième entre 110 et 120, la première bien délimitée du côté 94 se dégrade insensiblement du côté 105 ; elle présente une sorte de dédoublement et peut être considérée comme constituée par deux bandes juxtaposées. La partie entre 94 et 100 est, en effet, plus pâle que celle entre 100 et 105 ; cette seconde partie présente un maximum d'obscurité à 102.

Quelques auteurs, et Preyer entre autres, prétendent que le spectre que nous venons de décrire est dû à un mélange d'hématine alcaline et d'oxyhémoglobine. Marchand fait remarquer qu'il ne peut en être ainsi ; car, si l'on traite une solution de méthémoglobine alcaline par un courant d'acide carbonique ou par un peu d'acide acétique ou d'acide chlorhydrique dilué, on obtient au bout d'un certain temps, dans le rouge, la bande caractéristique de la méthémoglobine acide et non celle de l'hématine acide ; celle-ci apparaît au contraire par l'addition d'acide chlorhydrique plus concentré et est plus rapprochée de C que la précédente.

J'ajouterai que la première et la seconde bande du spectre de la méthémoglobine alcaline ne peuvent pas être considérées comme la superposition de la bande de l'hématine alcaline et de la première bande de l'oxyhémoglobine. En effet, dans le cas de la méthémoglobine alcaline on aperçoit tout près de D, mais un peu avant, une plage assez lumineuse très étroite qui sépare les deux bandes juxtaposées, plage lumineuse qui correspond justement à une partie des plus obscures de la bande de l'hématine alcaline ; de plus, cette dernière s'étend plus loin du côté de C et est bien plus foncée entre C et D que celle de la méthémoglobine alcaline.

On ne peut pas, ce me semble, davantage admettre que le spectre de la méthémoglobine alcaline soit constitué par une seule bande entre C et D et que les deux bandes D et E soient dues à de l'oxyhémoglobine produite par l'addition d'alcali. Les trois bandes d'absorption font bien partie du spectre de la méthémoglobine. Telle est du reste la manière de voir de la plupart des auteurs et de Jæderholm, qui donne à l'appui de son opinion les raisons suivantes :

Dans le spectre de la méthémoglobine alcaline, la deuxième des bandes entre D et E est plus forte que la première. C'est exactement l'inverse dans le spectre de l'oxyhémoglobine.

Ces deux bandes existent dans une solution de méthémoglobine alcaline préparée au moyen d'hémoglobine oxycarbonée, et devraient dans ce cas occuper la position des deux bandes correspondantes de l'hémoglobine oxycarbonée, si elles étaient dues à un reste d'hémoglobine non décomposée; or il n'en est nullement ainsi : les deux bandes de la méthémoglobine comprises entre D et E occupent la même position, que cette méthémoglobine ait été obtenue en partant, soit de l'hémoglobine oxycarbonée, soit de l'oxyhémoglobine. De plus, si l'on réduit de la méthémoglobine obtenue à l'aide d'hémoglobine oxycarbonée, il se reforme de l'hémoglobine oxycarbonée et l'on peut constater alors le déplacement des deux bandes entre D et E; toutes deux se rapprochent de E, ce qui prouve d'une façon évidente qu'elles ne peuvent être attribuées à l'hémoglobine oxycarbonée non transformée en méthémoglobine.

J'ai du reste fait, relativement aux spectres de la méthémoglobine acide et alcaline, quelques expériences et quelques vérifications que j'exposerai dans le dernier chapitre de cet ouvrage.

Si, d'après les travaux publiés jusqu'ici, on ne peut rien conclure de certain sur le nombre de bandes du spectre de la méthémoglobine acide, on peut toutefois admettre comme très probable que celui de la méthémoglobine alcaline est constitué par trois bandes, dont la première est située entre C et D, tout près de D, tandis que les deux autres sont comprises entre D et E.

Composés de la méthémoglobine. — Comme je l'ai déjà précédemment indiqué, Hoppe-Seyler a remarqué que lorsqu'on fait agir de l'hydrogène sulfuré sur de l'oxyhémoglobine, il se produit un composé rouge sale en solution concentrée, vert olive en solution étendue. Les solutions de ce corps, qu'il désigne dans ses derniers travaux sur ce sujet

sous le nom de sulfure de méthémoglobine, absorbent fortement le violet et le bleu et pour un degré de concentration convenable présentent dans le rouge une bande d'absorption plus éloignée de l'extrémité la moins réfrangible du spectre que celle de la méthémoglobine.

Nous avons déjà vu comment cette substance se distinguait de la méthémoglobine par la persistance de la bande dans le rouge, malgré l'addition d'ammoniaque et de sulfure ammonique à ses solutions.

Le sulfure de méthémoglobine, en se putréfiant en tube scellé, ne se transforme pas en hémoglobine, comme le ferait la méthémoglobine. Sa constitution est inconnue ; il n'a pu être obtenu à l'état cristallin. Il se forme chez les animaux à sang froid quand on leur fait inspirer un mélange d'air et d'hydrogène sulfuré ; les animaux à sang chaud dans les mêmes conditions meurent par arrêt du cœur, avant la production du sulfure de méthémoglobine (Hoppe-Seyler).

Ce composé s'obtiendrait en ajoutant à 1 centimètre cube de sang dissous dans 50 centimètres cubes d'eau, 25 à 40 centimètres cubes d'eau saturée d'hydrogène sulfuré. Du sang oxycarboné traité de la même façon resterait inaltéré (Salkowski).

Se produit-il réellement dans ces circonstances du sulfure de méthémoglobine? Le fait ne paraît pas bien établi et a besoin pour être affirmé d'être appuyé sur de nouvelles expériences. Hoppe-Seyler, lui-même, dans ses premières recherches sur l'action de l'hydrogène sulfuré sur l'hémoglobine, avait d'abord simplement indiqué que si l'on faisait traverser par un courant d'hydrogène sulfuré des solutions d'oxyhémoglobine, ces solutions présentaient au bout de quelque temps, dans le rouge, une bande d'absorption qui paraissait occuper la même position que celle de la méthémoglobine, et il avait considéré plus tard la nouvelle substance formée comme un sulfure d'hémoglobine

ou d'hématine. L'existence de ce composé n'est point douteuse, pas plus que sa distinction de la méthémoglobine ; mais l'on ne peut encore rien avancer de certain sur sa constitution et sa nature.

D'après Th. Weil et B. von Anrep, il existerait trois sortes de méthémoglobine : la méthémoglobine simple, la méthémoglobine oxygénée, la méthémoglobine oxycarbonée ; les auteurs sont moins affirmatifs sur l'existence de la première que sur celle des deux secondes. Voici les expériences sur lesquelles ils se fondent : si l'on traite des solutions d'oxyhémoglobine ou d'hémoglobine oxycarbonée par du permanganate de potassium par exemple, la solution d'oxyhémoglobine prend une teinte jaunâtre, tandis que celle de l'hémoglobine oxycarbonée reste d'abord rouge, laisse déposer un abondant précipité et ne devient jaune qu'après l'addition d'une grande quantité de réactif ; dans les deux cas, ces solutions présentent le spectre de la méthémoglobine ; mais la quantité de permanganate nécessaire pour opérer la transformation complète est plus grande dans le second cas que dans le premier. Si l'on prend maintenant deux solutions de méthémoglobine ainsi obtenues, qui ne présentent plus que la bande dans le rouge à une place identique il est vrai (les bandes de l'oxyhémoglobine ou celles de l'hémoglobine oxycarbonée s'étant complétement effacées), et qu'on les traite par un agent de réduction tel que : sulfure ammonique ou solution de Stockes, la solution de méthémoglobine obtenue par transformation de l'oxyhémoglobine présentera de nouveau le spectre de l'oxyhémoglobine, tandis que celle obtenue par transformation de l'hémoglobine oxycarbonée présentera le spectre de cette hémoglobine, alors même que l'on ait eu soin de chasser par un courant d'hydrogène l'oxyde de carbone dissous dans cette seconde solution de méthémoglobine.

Il faudrait, d'après cela, admettre l'existence de la O^2-mé-

thémoglobine et de la CO - méthémoglobine, tandis qu'il existerait peut-être aussi une méthémoglobine privée des groupements CO et O^2, qui s'obtiendrait en traitant une solution d'hémoglobine réduite par une solution d'iode. — Ces faits ne sont toutefois rien moins que certains et nécessitent, pour être admis, la confirmation de nouvelles expériences.

Constitution de la méthémoglobine. — Nous venons de voir combien sont nombreuses et variées les opinions émises à propos de l'aspect des spectres des différentes modifications de la méthémoglobine (alcaline et acide), combien sont grandes les divergences à ce sujet ; nous avons vu également quelle réserve il faut garder relativement à l'existence des composés de la méthémoglobine. Il me reste maintenant à passer en revue les diverses hypothèses faites sur la constitution de la substance qui fait l'objet de mon étude. Nous trouverons ici les idées les plus contradictoires ; chaque auteur apporte la sienne, et il est assez difficile de se faire une conviction. Nous aurons d'abord à réfuter la manière de voir de Hoppe-Seyler, depuis longtemps déjà abandonnée par celui qui l'avait émise et récemment relevée de l'oubli dans lequel elle était tombée : la méthémoglobine n'est qu'un mélange. Pour M. Krückenberg, elle est un mélange d'hématine, d'hémoglobine réduite et d'oxyhémoglobine ; toutefois, les caractères si tranchés des spectres de la méthémoglobine, les réactions si nettes et si caractéristiques qu'elle présente vis-à-vis de l'ammoniaque et du sulfure ammonique, enfin, et surtout le fait qu'on a pu l'obtenir à l'état cristallin et la soumettre, pour la purifier, à plusieurs cristallisations successives, me paraissent des considérations suffisantes pour réfuter victorieusement l'opinion de M. Krückenberg, pour démontrer que la méthémoglobine est une substance ayant une existence propre, et qu'il est

parfaitement inutile de la désigner, dorénavant, sous le nom d'*hoppéine*. La méthémoglobine est donc un composé défini qui, à cause de sa transformation facile en hémoglobine par les agents de réduction, a été généralement considéré comme se rapprochant fort par sa constitution de l'hémoglobine elle-même ; mais le désaccord entre les auteurs a commencé lorsqu'il s'est agi de préciser davantage la nature de ce composé. Plusieurs hypothèses ont alors été émises.

Pour les uns, et particulièrement pour Hoppe-Seyler, la méthémoglobine est un composé oxygéné de l'hémoglobine, mais moins oxygéné cependant que l'oxyhémoglobine; seulement, dans la méthémoglobine, la molécule d'oxygène entrerait en combinaison plus stable que dans l'oxyhémoglobine. Pour d'autres, et parmi eux nous citerons d'abord Sorby et Jæderholm, la méthémoglobine ne serait qu'un peroxyde d'hémoglobine, c'est-à-dire un produit d'oxydation plus élevé que l'oxyhémoglobine. Pour d'autres, enfin, la méthémoglobine renfermerait la même quantité d'oxygène que l'oxyhémoglobine ; et les deux substances ne différeraient que par le mode de groupement de leurs molécules. Telle est l'opinion de Otto, Hüfner, Richard Külz. Tous les auteurs sont unanimes pour admettre que l'oxygène forme avec l'hémoglobine une combinaison bien plus stable dans la méthémoglobine que dans l'oxyhémoglobine. Certains, et parmi eux Henninger, pensent que le fer, qui serait à l'état de minimum dans la molécule de l'oxyhémoglobine, serait au contraire à l'état de maximum dans celle de la méthémoglobine.

Je vais examiner maintenant ces différentes manières de voir, ainsi que la valeur des expériences sur lesquelles s'appuie chacune d'elles :

1° *La méthémoglobine est un produit d'oxydation de l'hémoglobine moins élevé que l'oxyhémoglobine* (Hoppe-Seyler, Marchand, Weyl, Anrep, Henninger, etc.).

Puisque la méthémoglobine se produit par l'action de substances réductrices sur l'oxyhémoglobine, disent les partisans de cette opinion, c'est bien une preuve qu'elle est moins oxygénée que cette dernière.

D'après Gamgee, l'action des nitrites sur le sang serait une action réductrice, et le produit de décomposition obtenu dans de pareilles conditions serait par conséquent un oxyde inférieur à l'oxyhémoglobine. J'objecterai à Gamgee que, suivant la plupart des auteurs, les nitrites agissent dans le sang comme oxydants et non comme réducteurs. Toutefois on ne peut nier la production de méthémoglobine sous l'influence de certains agents réducteurs.

C'est ainsi que l'hydrogène occlus sur une lame de palladium peut faire apparaître de la méthémoglobine dans une solution d'oxyhémoglobine. Si l'on remplit complétement un flacon d'une solution étendue d'oxyhémoglobine et qu'on y porte ensuite une lame de palladium chargée d'hydrogène, il se forme très rapidement de la méthémoglobine, et toute l'oxyhémoglobine peut même se transformer en cette substance avant qu'il se produise une trace d'hémoglobine, si la quantité d'oxyhémoglobine contenue dans le flacon n'est pas trop grande par rapport à la lame de palladium employée. C'est Hoppe-Seyler qui a réalisé cette expérience et qui l'explique de la façon suivante : l'hydrogène actif agit sur la molécule d'oxygène qui, dans l'oxyhémoglobine, est faiblement combinée à l'hémoglobine; il dédouble cette molécule, s'empare d'un atome pour former de l'eau, tandis que l'autre atome d'oxygène devient actif et forme avec l'hémoglobine une combinaison stable, moins oxygénée que l'oxyhémoglobine, la méthémoglobine. — Mais est-il bien certain que toute l'oxyhémoglobine soit transformée en méthémoglobine par l'action de l'hydrogène occlus sur le palladium, et ne peut-on admettre qu'il se forme simultanément de l'hémoglobine réduite (ce que l'on peut obser-

ver du reste en prolongeant suffisamment l'action de la lame de palladium)? L'explication de Hoppe-Seyler deviendrait alors une pure hypothèse, car, hypothèse pour hypothèse, l'on pourrait aussi bien supposer que l'atome d'oxygène rendu libre par la formation d'eau se porte sur une molécule d'oxyhémoglobine non décomposée et en forme un peroxyde d'hémoglobine. Une seconde objection que je ferai à Hoppe-Seyler, c'est qu'il a le plus souvent négligé, dans son expérience avec le palladium chargé d'hydrogène, de chasser l'oxygène contenu à l'état de dissolution dans la solution d'oxyhémoglobine ; il se borne en effet à signaler la possibilité de déplacer la majeure partie de cet oxygène et n'indique pas s'il a pris cette précaution.

La transformation de l'oxyhémoglobine en méthémoglobine par la putréfaction, s'expliquerait aussi d'une façon analogue à l'action de l'hydrogène occlus sur le palladium, et permettrait par suite d'affirmer encore que la méthémoglobine est moins oxydée que l'oxyhémoglobine. Toutefois ce phénomène est moins probant que le précédent, puisqu'on doit ici livrer accès à l'air et qu'on ne peut savoir si une partie de l'oxygène de l'air n'est pas employée à ramener à l'état d'oxyhémoglobine l'hémoglobine formée par la soustraction de l'oxygène, dont une portion se serait fixée sur l'oxyhémoglobine pour la faire passer à l'état de méthémoglobine.

La même objection peut être faite au mode d'action des autres agents de réduction : pyrocatéchine, acide pyrogallique, etc., et j'estime que la transformation de l'oxyhémoglobine en méthémoglobine sous l'influence de ces agents ne permet pas de conclure d'une façon certaine que la deuxième de ces substances est moins oxygénée que la première ; elle pourrait l'être davantage, à plus forte raison l'être autant.

Mais les partisans de l'opinion que je suis en train d'exposer ont avancé d'autres faits à l'appui de leur manière de voir.

Si l'on porte sous la cloche d'une machine pneumatique

une solution d'oxyhémoglobine fraîchement préparée, qu'on fasse le vide et qu'on abandonne ensuite la solution à la température de la salle d'expérience, on peut constater, au bout de peu de temps, qu'il s'est produit de la méthémoglobine ainsi que de l'hémoglobine (Hoppe-Seyler). Je ferai à la conclusion que l'auteur a tirée de cette expérience l'objection que j'ai faite à propos de l'action du palladium et des substances réductrices. Hoppe-Seyler reconnaît du reste qu'il serait à la rigueur possible, quoique très invraisemblable, que l'oxygène enlevé à une molécule d'oxyhémoglobine se soit porté sur une molécule de cette substance pour la transformer en hyperoxyde; il est aussi permis d'admettre que sous l'influence du vide le groupement seul a été modifié et que la quantité d'oxygène contenue dans les deux corps, oxyhémoglobine et méthémoglobine, est identiquement la même.

Une autre preuve apportée à l'appui de l'hypothèse de Hoppe-Seyler est que, si l'on transforme de l'hémoglobine en méthémoglobine, ou *vice-versa,* de la méthémoglobine en hémoglobine, il ne se produit jamais de l'oxyhémoglobine. Cette raison est insuffisante, et je ne vois pas pourquoi il serait nécessaire, pour transformer le produit d'oxydation le plus élevé en hémoglobine, de passer par le produit intermédiaire. Du reste, s'il en était ainsi, et en admettant que la méthémoglobine fût l'intermédiaire, pourquoi, en agitant l'hémoglobine à l'air, obtient-on directement de l'oxyhémoglobine? pourquoi ne se forme-t-il pas d'abord de la méthémoglobine? Toutefois les expériences dirigées dans ce sens ont été si nombreuses et si variées que je vais exposer les principales.

Marchand faisait traverser par un courant d'acide carbonique une solution d'oxyhémoglobine : quand le liquide présentait la bande de Stockes, il le traitait par quelques gouttes d'une solution d'iode, tout en continuant à faire passer le courant d'acide carbonique, afin d'éviter l'accès de l'air; on

obtenait dans ces conditions directement de la méthémoglobine ; si on réduisait cette dernière par du sulfure ammonique on obtenait de nouveau de l'hémoglobine qui, agitée au contact de l'air, se transformait en oxyhémoglobine.

Si l'on transforme de l'hémoglobine en méthémoglobine par le ferricyanure de potassium, on ne peut observer la production intermédiaire d'oxyhémoglobine.

Si l'on place en tube scellé une solution de méthémoglobine et qu'on l'abandonne à la putréfaction, il se produit de l'hémoglobine et non de l'oxyhémoglobine, pourvu que l'on ait soin d'empêcher l'accès de l'air.

Hoppe-Seyler remplit à moitié un flacon à trois tubulures avec une solution de méthémoglobine. Trois tubes plongent dans ce flacon ; celui qui passe par la tubulure centrale s'enfonce dans la solution et porte à sa partie supérieure un robinet auquel est réuni un petit tube de verre disposé de façon à permettre l'examen spectroscopique du liquide qu'on y fera parvenir. L'un des tubes latéraux s'enfonce dans le liquide, l'autre s'arrête au niveau du bouchon. On balaie pendant une heure le flacon et la solution à l'aide d'un courant d'hydrogène, puis on ferme le troisième tube et l'on soulève le premier tube latéral au-dessus du niveau du liquide. On fait arriver encore l'hydrogène et on ouvre le robinet du tube médian, la pression du gaz fait monter dans ce tube le liquide, qui en chasse l'air ; on ferme le robinet, et on nettoie le tube spécial placé au-dessus du robinet, puis on le remplit de sulfure ammonique ; on ouvre de nouveau le robinet, de façon à faire arriver une petite quantité de méthémoglobine au contact du sulfure ammonique, et l'on observe au spectroscope les différentes couches superposées ; on n'aperçoit que les bandes de l'hémoglobine, et, plus au-dessus, celles de l'hémochromogène ; les bandes de l'oxyhémoglobine manquent absolument.

Autre disposition de l'expérience. Un tube à robinet placé

verticalement est muni d'un ajutage supérieur et est réuni à sa partie inférieure par un tuyau en caoutchouc à un tube de verre. On remplit tout l'appareil de mercure, on ferme le robinet, on verse dans l'ajutage une solution de méthémoglobine, puis on ouvre le robinet et l'on abaisse le tube de verre, de façon à faire descendre la solution au dessous du robinet, que l'on referme avant de relever le tube. On nettoie alors l'ajutage et on y verse du sulfure ammonique, puis on ouvre le robinet pour laisser arriver un peu de la solution au contact du sulfure ; on constate alors au spectroscope qu'il ne se forme dans ces conditions de l'oxyhémoglobine, que si la solution de méthémoglobine contient de l'oxygène absorbé, si l'on a abandonné la solution pendant un jour seulement à la putréfaction, l'oxygène a été dépensé, et on n'observe alors dans les différentes couches du liquide que de l'hémochromogène en haut, de l'hémoglobine en bas.

Je ne discuterai pas ces expériences, puisque je n'ai pas admis le principe sur lequel elles s'appuient ; je ferai observer seulement qu'en employant un appareil analogue au premier de ceux que je viens de décrire, Saarbach obtint des résultats absolument inverses à ceux de Hoppe-Seyler. En réduisant de la méthémoglobine en hémoglobine par de petites quantités de sulfure ammonique, et en transformant de l'hémoglobine en méthémoglobine à l'aide du chlorate de potasse, il observa toujours de la méthémoglobine comme produit intermédiaire, et prétendit, pour expliquer ces divergences, que Hoppe-Seyler avait employé du sulfure ammonique en excès, pour réduire la méthémoglobine et que, d'autre part, le ferricyanure de potassium était mal choisi pour opérer la transformation inverse, parce qu'il était trop énergique et qu'on ne pouvait observer les diverses phases de l'oxydation ; avec le chlorate de potasse au contraire on pouvait distinguer à l'aide du spectroscope, entre la couche de méthémoglobine au contact de la solution de chlo-

rate et l'hémoglobine non encore transformée, une couche d'oxyhémoglobine.

J'ajouterai, en outre, que Otto répéta les mêmes expériences avec de la méthémoglobine de porc cristallisée et un appareil fort analogue à celui de Hoppe-Seyler, mais auquel il avait fait subir quelques perfectionnements. Otto ne put rien conclure de ses expériences de réduction de la méthémoglobine et ne put déterminer exactement si le spectre qu'il observait était celui de l'oxyhémoglobine ou d'un mélange de méthémoglobine alcaline et d'hémoglobine réduite. Ses expériences d'oxydation furent plus précises et il n'observa jamais d'oxyhémoglobine lors de la transformation de l'hémoglobine en méthémoglobine à l'abri de l'air.

Tels sont les principaux faits invoqués à l'appui de l'hypothèse d'Hoppe-Seyler ; la plus probante de ces expériences est certainement la formation de la méthémoglobine par l'action de l'hydrogène occlus sur le palladium ; toutefois l'interprétation de cette action n'est pas elle-même exempte de critique, et l'on ne peut conclure d'une façon certaine que la méthémoglobine soit un produit moins oxygéné que l'oxyhémoglobine. Est-elle donc plus oxygénée? Je m'en vais étudier maintenant les preuves apportées à l'appui de cette opinion par les différents auteurs qui l'ont soutenue.

2° *La méthémoglobine est un peroxyde d'hémoglobine.* (Sorby, Jæderholm, etc.).

La méthémoglobine se produit par l'action de faibles quantités d'acides ou d'agents oxydants sur les solutions d'oxyhémoglobine. Telle est une des principales raisons alléguées pour justifier cette nouvelle manière de voir. Les acides, les oxydants fixeraient de l'oxygène sur la molécule d'oxyhémoglobine et par suite, la transformeraient en un peroxyde. Sans doute ces agents ont la propriété de donner naissance à de la méthémoglobine ; mais leur mode d'action n'est nullement connu

d'une façon certaine ; les acides, par exemple, si on les emploie en solution concentrée, transforment l'oxyhémoglobine en hématine ; on n'admet pas pour cela que l'hématine soit un peroxyde d'hémoglobine. A la production de la méthémoglobine par les oxydants, on peut du reste opposer encore sa production par des réducteurs.

Mais, ajoutent ceux qui prétendent avoir affaire à un peroxyde, si l'on traite la méthémoglobine par un agent réducteur, elle se transforme, il est vrai, en hémoglobine, non toutefois sans passer par l'état intermédiaire d'oxyhémoglobine. Sorby, laissant pendant quelques jours une solution de méthémoglobine en tube ouvert avec de la limaille de fer, constate qu'il se forme de l'oxyhémoglobine ; Jæderholm remarque que si l'on traite une solution alcaline de méthémoglobine par du sulfure ammonique ou du réactif de Stockes, on obtient d'abord de l'oxyhémoglobine, finalement de l'hémoglobine réduite. On ne peut saisir le stade intermédiaire que si l'on emploie de faibles quantités des agents réducteurs ; sinon la réaction est trop vive et trop rapide, pour qu'on puisse en observer les différentes phases. Ces expériences sont passibles d'une sérieuse objection, qui leur a déjà du reste été faite par Hoppe-Seyler. Les auteurs n'ont pas pris la précaution d'opérer à l'abri de l'air et comme l'hémoglobine réduite se transforme facilement à l'air, en oxyhémoglobine, il serait fort possible que l'oxyhémoglobine qu'ils ont obtenue en réduisant la méthémoglobine ne fût point un produit intermédiaire à cette dernière substance et à l'hémoglobine réduite, mais seulement un produit d'oxydation, par l'oxygène de l'air, de l'hémoglobine provenant de la réduction.

Dans une nouvelle expérience que Hoppe-Seyler qualifie de « par trop naïve », Jæderholm a également négligé d'éliminer cette cause d'erreur, l'oxygène de l'air. Jæderholm employait des solutions d'hémoglobine réduite qui étaient contenues dans

des tubes à essais fermés par un caoutchouc étranglé par une pince. Il ouvrait ce tube, projetait dans ces solutions des fragments de ferricyanure, refermait le tube, et observait ensuite au spectroscope de la méthémoglobine et de l'oxyhémoglobine. Hoppe-Seyler attribue la formation d'oxyhémoglobine à l'air mécaniquement entraîné et a, en effet, obtenu la production d'oxyhémoglobine dans des conditions identiques, en remplaçant les cristaux de ferricyanure par de petits morceaux de quartz qui n'étaient cependant capables de produire aucune oxydation. Toutefois, pour répondre aux critiques de ses adversaires, Jæderholm reprit ses expériences, en empêchant complètement l'accès de l'air, et il put constater que dans la réduction de la méthémoglobine, que cette réduction eût lieu sous l'influence de la putréfaction ou d'agents réducteurs, il se produisait toujours de l'oxyhémoglobine comme terme de passage.

Nous avons déjà vu, dans le précédent paragraphe, comment Saarbach était parvenu à obtenir de l'oxyhémoglobine en transformant, à l'abri de l'air, l'hémoglobine en méthémoglobine par le chlorate de potasse ; mais nous avons également vu, à cette occasion, les résultats inverses fournis par Marchand et Hoppe-Seyler, d'abord, et par Otto, ensuite.

Rien n'est donc certain, aucune des preuves alléguées n'est exempte de critique, et il n'est pas permis d'affirmer que la méthémoglobine est un peroxyde d'hémoglobine ; il ne me reste plus actuellement qu'à examiner la troisième hypothèse et à voir si les expériences sur lesquelles elle se base méritent d'entraîner notre conviction.

3° La méthémoglobine contient la même quantité d'oxygène que l'oxyhémoglobine. (Hüfner, Otto, Richard Külz).

Dès 1870, Ray Lancaster avait exprimé de la façon suivante ses vues sur la nature de la méthémoglobine : « Elle est probablement, avait-il dit, de l'hémoglobine ayant subi une légère

modification dans son état moléculaire, ce qui expliquerait sa facile formation et reconversion ; il reste à déterminer s'il se produit dans ces changements quelque perte ou addition d'éléments chimiques. »

En 1882, Hüfner et Otto purent obtenir de la méthémoglobine de porc cristallisée par le procédé que j'ai indiqué ci-dessus. Les cristaux desséchés furent analysés ainsi que ceux d'oxyhémoglobine du même animal. Les résultats trouvés dans les deux cas furent assez concordants, comme le montre le tableau suivant :

	Oxyhémoglobine (porc)	Méthémoglobine (porc)
Carbone	54,17 %	53,99 %
Hydrogène	7,38	7,13
Azote	16,23	16,19
Soufre	0,66	0,66
Fer	0,43	0,45
Oxygène	21,36	21,58

Hüfner et Otto, se basant sur l'analogie de ces résultats, émirent les premiers l'idée qu'il était fort possible que la méthémoglobine ne différât de l'oxyhémoglobine que par le mode d'union de l'oxygène qu'elle renferme et nullement par la quantité de cet oxygène. Toutefois, il faut remarquer ici, comme l'avait déjà indiqué Hoppe-Seyler, que l'analyse chimique ne peut pas donner des notions bien exactes sur la constitution de deux corps dont les molécules ont des dimensions telles, que l'addition ou la suppression d'un atome d'oxygène peut fort bien être mise sur le compte des erreurs expérimentales.

Dans un nouveau mémoire, Otto s'efforce de démontrer la réalité de l'hypothèse qu'il vient d'émettre avec Hüfner. Voici le procédé auquel il a recours : il détermine à l'aide du spectrophotomètre la quantité d'oxyhémoglobine contenue dans un

volume exactement mesuré d'une solution de cette substance ; au moyen de la pompe à mercure, il extrait l'oxygène de cette solution; il recueille cet oxygène dans un tube gradué, de façon à connaître exactement son volume. Après avoir été soumise à l'action de la pompe, la solution d'oxyhémoglobine contient un mélange d'hémoglobine et de méthémoglobine; de plus, elle s'est un peu concentrée par suite de l'évaporation de l'eau ; on l'étend donc jusqu'à ce qu'elle occupe le volume primitif ; puis on l'agite à l'air, afin de transformer l'hémoglobine en oxyhémoglobine et l'on cherche, au spectro-photomètre, sa contenance en méthémoglobine et oxyhémoglobine. Cette contenance connue, on peut déterminer la quantité d'oxygène que devrait théoriquement fournir l'oxyhémoglobine qui reste dans la solution pour passer à l'état d'hémoglobine, et voir quelle relation existe entre cette quantité calculée et le volume directement mesuré. Si ces deux valeurs sont égales, c'est que l'oxyhémoglobine qui s'est transformée en méthémoglobine, n'a ni absorbé, ni abandonné d'oxygène, et, par suite, en contient la même proportion ; si, au contraire, la valeur calculée est plus faible que la valeur trouvée, c'est que la méthémoglobine est un hyperoxyde ; elle serait un oxyde inférieur si la première valeur était plus forte que la deuxième.

Dans ses expériences, Otto trouva constamment concordance entre les deux volumes d'oxygène, et en conclut que la méthémoglobine ne différait de l'oxyhémoglobine que par son mode de groupement moléculaire. Il trouva en outre que la somme des quantités d'oxyhémoglobine et de méthémoglobine en solution après l'aspiration par la pompe, était égale à la quantité d'oxyhémoglobine en solution avant le début de l'expérience ; ce qui prouve qu'il ne s'est point produit dans la réaction de substance étrangère, que toute l'oxyhémoglobine disparue a été transformée en méthémoglobine. Les résultats de

ces expériences sont du reste consignés dans le tableau suivant :

Avant l'aspiration par la pompe		*Après l'aspiration par la pompe et agitation à l'air*			
OXYHÉMOGLOBINE en solution	O EXTRACTIBLE calculé	OXYHÉMOGLOBINE en solution	MÉTHÉMOGLOBINE en solution	O RECUEILLI	O EXTRACTIBLE calculé d'après l'oxyhémoglobine restant en solution
gr.	gr.	gr.	gr.	cc.	cc.
1,245	1,497	0,583	0,658	0,682	0,6996
1,839	2,210	1,234	0,600	1,465	1,4833
2,055	2,470	1,352	0,693	1,598	1,6251
3,530	4,243	2,088	1,401	2,512	2,5098
2,448	2,942	1,673	0,736	2,036	2,0109
1,573	1,893	0,988	0,588	1,165	1,1876

Comme on le voit, la concordance des chiffres des deux dernières colonnes est presque rigoureuse. Remarquons en outre que les solutions d'oxyhémoglobine employées pour ces déterminations étaient obtenues en dissolvant dans de l'eau à 30°, privée d'air par une ébullition prolongée, des cristaux d'oxyhémoglobine de chien. Les expériences d'Otto ne me paraissent pourtant pas tout à fait à l'abri de critique. En effet les constantes photométriques dont se servait l'auteur pour la détermination de la contenance des solutions en méthémoglobine avaient été déterminées pour le sang de chien d'une façon tout-à-fait indirecte; elles pouvaient donc ne pas être absolument exactes et fausser par suite légèrement les résultats. En outre, il eût été nécessaire de constater que, lorsqu'on avait fait le vide au-dessus de la solution d'oxyhémoglobine, il ne restait réellement dans cette solution que de la méthémoglobine et de l'hémoglobine réduite. Il est sans doute probable que les choses se passent ainsi; mais il est utile de s'en assu-

rer, car, si une partie de l'oxyhémoglobine n'avait pas été transformée, les résultats seraient évidemment faussés.

Hüfner et Külz se sont proposés de déterminer la quantité d'oxygène contenue dans la méthémoglobine en se basant sur la transformation de cette substance en hémoglobine bioxyazotée, sous l'influence d'un courant de bioxyde d'azote ; il se formerait également dans cette réaction du peroxyde d'azote aux dépens de l'oxygène de la méthémoglobine, peroxyde d'azote qui, au contact de l'eau, se décomposerait en acides azotique et azoteux. On pourrait doser l'acide azoteux à l'aide de l'urée et déduire de là la quantité d'oxygène enlevée à la méthémoglobine.

Dans le cas où les réactions suivraient les phases représentées par les formules suivantes :

Méthémoglobine — Hémoglobine bioxyazotée

$$6\ AzO + 2\ (Hb\ O^2) = 4\ (AzO^2) + 2\ (Hb\ AzO)$$
$$4\ AzO^2 + 2\ (H^2O) = 2\ (AzO^2H) + 2\ (AzO^3H)$$
$$2\ (AzO^2H) + CH^4Az^2O = 3\ (H^2O) + CO^2 + 2\ (Az^2)$$

une molécule d'azote libre correspondrait à une molécule d'oxygène enlevée à la méthémoglobine pour la transformer en hémoglobine qui se combine au bioxyde d'azote. Cependant rien de certain à cet égard, et les auteurs durent renoncer à déterminer la quantité d'oxygène extractible contenue dans un poids donné de méthémoglobine et se contenter de vérifier quel rapport existe entre les quantités d'oxygène que peuvent abandonner deux solutions d'oxyhémoglobine et de méthémoglobine lorsqu'on les traite par le bioxyde d'azote ; dans les deux cas ces quantités sont mesurées d'après le volume de l'azote obtenu par l'addition de 1 % d'urée à la solution, car l'on admet que la réaction, quelle qu'elle soit, est la même dans les deux cas.

On employait donc deux solutions : l'une d'oxyhémoglobine, l'autre de méthémoglobine, aussi identiques que possible, c'est-

à-dire que l'une devait contenir sensiblement autant de méthémoglobine que l'autre d'oxyhémoglobine. On déterminait les concentrations de ces deux solutions à l'aide du spectrophotomètre et en employant pour la méthémoglobine deux constantes $A_{am} = 0{,}001654$ et $A'_{am} = 0{,}001412$, qui sont valables pour la méthémoglobine alcaline seulement ; on ajoutait aux solutions 1 % d'urée pure, et on les agitait dans un appareil disposé *ad hoc* avec le bioxyde d'azote ; on mesurait le volume d'azote, et on faisait les corrections ordinaires.

Hüfner et Külz trouvèrent ainsi que le volume de l'azote était à peu près le même, que l'on opérât avec des solutions d'oxyhémoglobine ou des solutions de méthémoglobine, et ils en déduisirent que la méthémoglobine contenait autant d'oxygène que l'oxyhémoglobine. Les résultats de leurs expériences ne sont cependant pas absolument concordants, et l'on ne peut, je crois, encore être tout à fait aussi affirmatif que les deux auteurs allemands, qui attachent peu d'importance aux écarts observés, et se bornent à les expliquer en les rapportant aux nombreuses causes d'erreur qui peuvent intervenir dans le calcul du volume d'azote. Il faut reconnaître toutefois que ces écarts sont très faibles, étant donnés surtout les poids d'oxyhémoglobine et de méthémoglobine employés pour ces expériences.

L'hypothèse que la méthémoglobine présente le même degré d'oxydation que l'oxyhémoglobine n'est du reste en contradiction avec aucun des faits connus, et l'on peut fort bien admettre qu'un agent réducteur, suivant qu'il sera plus ou moins énergique ou employé à doses plus ou moins fortes, transforme la méthémoglobine en oxyhémoglobine, en modifiant son groupement moléculaire, ou la transforme directement en hémoglobine, en lui enlevant son oxygène ; on comprend plus facilement aussi dans ces conditions que la méthémoglobine puisse se former indifféremment par l'action d'agents oxydants, ou d'agents réducteurs sur l'oxyhémoglobine.

Je considère donc comme la plus vraisemblable la manière de voir de Hüfner, Otto et Richard Külz, à laquelle vient du reste de se rallier Jæderholm. La méthémoglobine serait par suite un produit d'oxydation de l'hémoglobine, contenant précisément autant d'oxygène que l'oxyhémoglobine, mais formant avec cet oxygène une combinaison plus stable que l'oxyhémoglobine, puisque cette combinaison ne peut être détruite, ni par le vide, ni par un courant de gaz inerte. Il se pourrait alors que, dans la molécule de méthémoglobine, l'oxygène se fût porté sur le fer de l'hémoglobine pour le faire passer à l'état de maximum, tandis que, dans l'oxyhémoglobine, le fer se trouverait au minimum et l'oxygène serait faiblement uni au groupement hémoglobine.

CHAPITRE III

LA MÉTHÉMOGLOBINE DANS L'ORGANISME

Nous connaissons maintenant les différents modes de production de la méthémoglobine *in vitro ;* nous avons vu quelles sont les propriétés de ce composé, quels sont ses caractères distinctifs et principalement ses apparences spectroscopiques ; j'ai indiqué les différentes hypothèses émises à propos de sa constitution, et je me suis rangé à la manière de voir de Hüfner et d'Otto ; il me reste à étudier la formation de la méthémoglobine dans l'organisme, son rôle, sa destruction, son élimination.

Une première question se pose : Se produit-il à l'état physiologique de la méthémoglobine dans le sang ?

Hayem, se basant sur ce fait que la méthémoglobine prend naissance *in vitro* par l'action de certains agents réducteurs (acide pyrogallique, hydrogène occlus sur une lame de palladium, etc.) pense que cette substance doit également se former dans les globules sanguins, lorsque les éléments anatomiques brûlent l'oxygène que leur cède l'oxyhémoglobine. Toutefois on n'a jamais pu constater la présence de méthémoglobine dans le sang normal, même fortement asphyxique, et s'il s'en produisait dans les conditions indiquées ci-dessus, il faudrait admettre qu'elle disparaît immédiatement.

Une autre question qui se pose encore est celle de savoir sous quelles influences morbides l'oxyhémoglobine peut se transformer en méthémoglobine dans l'organisme. On est loin d'être fixé à cet égard.

D'après Marchand, le sang présenterait, dans la maladie dite de Winckel, des modifications tout-à-fait analogues à celles qu'il subit sous l'influence des chlorates; il contiendrait très probablement de la méthémoglobine, quoique l'on n'ait pu en constater la bande dans le rouge à l'examen spectroscopique.

Dans les cas de brûlures étendues de la peau, Hoppe-Seyler n'a pas trouvé dans le sang de méthémoglobine; il a toutefois constaté sa présence dans l'urine.

Dans la fièvre hématurique et dans l'hémoglobinurie paroxystique ou *à frigore*, on observe fréquemment des urines foncées qui, examinées au spectroscope aussitôt après l'émission, présentent les bandes de la méthémoglobine. Si l'on examine le sérum du sang des individus atteints d'une de ces affections, on n'y trouve que de l'oxyhémoglobine.

La transformation de l'oxyhémoglobine en méthémoglobine se faisant facilement dans l'urine, il faudrait, pour être certain que la méthémoglobine peut se produire dans l'organisme, dans des cas pathologiques, pouvoir démontrer directement dans ces cas sa présence dans le sang. Ces constatations n'ont pas encore été faites; on a seulement observé la production de méthémoglobine dans le torrent circulatoire chez des individus ou des animaux que l'on avait soumis à l'action de certaines substances toxiques ou médicamenteuses. C'est de la production de méthémoglobine dans ces conditions dont je vais maintenant m'occuper.

Nous avons déjà vu sous l'influence de quels agents les solutions sanguines ou les solutions d'oxyhémoglobine se transformaient en solutions de méthémoglobine. Nous allons examiner quelle est l'action de certains de ces agents sur le sang vivant et circulant, soit qu'on les injecte à des animaux, soit qu'on les administre comme remèdes.

Action des nitrites. — Gamgee, le premier, observa le changement de couleur que présentait le sang d'animaux empoi-

sonnés par le nitrite d'amyle ; il examina le sang au spectroscope et décrivit son spectre ; le sang contenait de la méthémoglobine, que Gamgee lui-même prit plus tard pour un nitrite d'hémoglobine et Rabuteau pour de l'hématine acide. Chez les animaux qui ont inhalé des vapeurs de nitrite d'amyle les combustions respiratoires sont fort diminuées ; si l'on met chez ces animaux une artère à nu, on voit que le sang qui y circule a une teinte brun foncé (Jolyet et Regnard).

La plupart des nitrites, l'acide nitreux et le peroxyde d'azote introduits dans l'organisme par injections ou inhalations exercent sur le sang la même action que le nitrite d'amyle. Giacosa, en étudiant l'action des nitrites sur les animaux, examina leurs urines et n'y trouva pas trace de matière colorante du sang ; il en conclut qu'il n'y avait point ici dissolution de cette matière colorante dans le plasma ; la méthémoglobine formée par l'action des nitrites serait fixée dans les globules rouges du sang.

Toutefois l'altération subie par le sang sous l'influence des nitrites, c'est-à-dire la transformation de l'oxyhémoglobine en méthémoglobine dans l'organisme, peut n'être que passagère ; le globule est capable d'absorber à nouveau l'oxygène et de reprendre ses fonctions ; c'est ainsi que si l'on suspend à temps les inhalations de nitrite d'amyle, si l'on ne pousse pas trop loin les injections de nitrite de sodium, on peut constater au bout d'un certain temps que le sang a recouvré ses propriétés normales ; il ne présente plus à l'examen spectroscopique la bande, dans le rouge, de la méthémoglobine, mais seulement les deux bandes de l'oxyhémoglobine. Cette transformation pourrait même s'effectuer *in vitro* (Jolyet et Regnard) ; tel n'est point l'avis de Giacosa ; mais, d'après Hénocque, en défibrinant et aérant du sang d'un animal intoxiqué par le nitrite de sodium, aussitôt après sa sortie des vaisseaux, on pourrait faire repasser la méthémoglobine qu'il contient à l'état

d'oxyhémoglobine. Le sang, ayant subi l'action du nitrite d'amyle, présenterait de même, au bout de quelques heures, selon Hayem, le spectre de l'oxyhémoglobine, alors même que ce sang aurait été conservé en dehors de l'organisme. Ce phénomène doit être attribué, non pas comme le prétend Hénocque à une oxydation de la méthémoglobine en présence de l'air atmosphérique, mais bien à une propriété inhérente à la méthémoglobine formée dans les globules rouges vivants. Hénocque a du reste étudié la durée de la transformation de l'oxyhémoglobine en méthémoglobine et de la transformation inverse dans le sang d'animaux auxquels il injectait diverses quantités de nitrites de sodium ou d'amyle et a dressé des courbes pour représenter la marche du phénomène ; il est arrivé ainsi aux conclusions suivantes :

L'action du nitrite de sodium est immédiate si on l'injecte dans la cavité péritonéale ; elle est plus lente si on a recours aux injections sous-cutanées, plus lente encore si on injecte le nitrite dans l'estomac. Cette action a une durée variable ; le nitrite s'élimine dès son absorption ; la méthémoglobine disparaît au bout d'un certain temps si l'on cesse l'administration de l'agent toxique ; elle disparaît graduellement d'abord, rapidement ensuite. Si les doses sont trop fortes, la capacité respiratoire du sang est considérablement diminuée, et cette transformation ne peut plus se faire ; l'animal meurt.

Action du nitrobenzol. — Le nitrobenzol introduit dans l'organisme provoquerait également une modification du sang, mais non de même nature que celle due aux nitrites (Lewin, Starkow) ; il se produirait ici de l'hématine et non de la méthémoglobine, en même temps qu'une altération et une destruction du globule sanguin. Chez les animaux empoisonnés par le nitrobenzol, la contenance du sang en oxygène diminue énormément, et devient d'autant plus faible que l'action du poison est plus énergique.

Il est pourtant fort possible que, comme le signale Marchand, et comme je l'ai déjà du reste indiqué à propos de l'action du nitrobenzol sur les solutions d'oxyhémoglobine, il se produise ici de la méthémoglobine.

Lewin attribue au binitrobenzol, à l'éther éthylique, au formiate d'éthyle, etc., les mêmes propriétés qu'au nitrobenzol.

Action du sulfure de carbone. — Le sulfure de carbone exercerait aussi, d'après le même auteur, une action analogue sur l'organisme. Il transformerait l'oxyhémoglobine en hématine, peut-être en méthémoglobine, si, comme le prétend Marchand, Lewin a confondu avec le spectre de cette substance celui de l'hématine. Toutefois MM. Engel et Kiener ont intoxiqué avec le sulfure de carbone, 12 lapins dans les conditions les plus variées, et dans aucun cas, l'examen au spectroscope du sang ou du sérum sanguin ne leur a permis de constater la présence de méthémoglobine. Ils ont observé l'altération des globules dans les intoxications à doses massives ; l'hémoglobine n'est jamais passée dans les urines ; dans un seul cas, il s'est produit une hématurie passagère, qui devait sans doute être mise sur le compte de l'irritation rénale. Peut-être faut-il attribuer l'action du sulfure de carbone, comme l'a avancé Dujardin-Beaumetz, à l'hydrogène sulfuré que peut dégager ce liquide, lorsqu'il est impur ; il se produirait dans ce cas le composé que nous avons étudié sous le nom de sulfure de méthémoglobine.

Action des chlorates. — Dans l'intoxication par les chlorates de potassium ou de sodium, on a également pu constater la production de méthémoglobine dans le sang ; les globules rouges sont détruits sous l'action de ces agents ; ils sont, d'après Marchand, éliminés par les reins dont ils provoquent des altérations ; l'hémoglobine est décomposée ; le sang a une couleur

brun chocolat ; il est facilement coagulable et sa capacité d'absorption pour l'oxygène est diminuée. La mort peut survenir si l'action a été trop énergique, soit par suite du défaut d'absorption d'oxygène par les globules, soit par suite d'altérations rénales causées par l'élimination des cadavres de ces globules (Marchand). Si au contraire les doses de chlorate employées ne sont pas trop fortes, tout peut rentrer dans l'ordre au bout d'un certain temps.

Action de l'acide pyrogallique. — Chez les animaux intoxiqués par l'acide pyrogallique, le sang se désoxygène graduellement à mesure que l'intoxication augmente ; sa capacité respiratoire diminue ; il prend une couleur sépia et présente le spectre de la méthémoglobine. Cette action peut se produire dans les vaisseaux à l'abri du contact de l'air (Quinquaud). Pour Claude Bernard, au contraire, la présence de l'air est nécessaire et la transformation de l'oxyhémoglobine n'aurait lieu qu'au moment où le sang traverse les poumons.

Action de la kairine. — Le sang des animaux kairinisés présente des propriétés semblables à celui des animaux empoisonnés par les chlorates et par l'acide pyrogallique ; il est couleur brun-sépia, se coagule facilement, absorbe l'oxygène en moins grande quantité et contient sans doute de la méthémoglobine ; toutefois on a seulement constaté la formation de cette substance par l'action directe du chlorhydrate de kairine sur le sang *in vitro*. Krückenberg prétend que sous l'action de la kairine, il se forme dans le sang de l'hématine.

Action de l'hydrogène arsénié. — On pourrait aussi, d'après certains auteurs, constater la production de méthémoglobine dans le sang dans les cas d'intoxication par l'hydrogène arsénié. Le fait n'est point démontré.

La méthémoglobine se forme encore dans l'organisme sous l'action de plusieurs autres substances, telles que :

Ferricyanures (potassium, sodium), permanganate de potassium, thalline, hydroquinone, pyrocatéchine, acide osmique, térébenthine, brome, iode. Mais cette énumération est très incomplète, et il reste, ce me semble, encore de fort intéressantes recherches à faire dans cette voie.

Il faut remarquer, à propos de l'action des différents agents que je viens d'étudier ou d'énumérer, qu'ils ne se comportent pas de la même façon vis-à-vis de l'hémoglobine dissoute ou de l'hémoglobine globulaire ; celle-ci se laisse plus facilement transformer en méthémoglobine que celle-là ; de plus la transformation de la première est permanente ; celle de la seconde n'est que passagère.

Si l'on ajoute à du sang frais défibriné, une solution concentrée de ferricyanure de potassium, le mélange ne prend pas, comme sous l'action des solutions étendues, une couleur brune ; il reste rouge, et l'on ne peut distinguer à l'examen spectroscopique, que les deux bandes de l'oxyhémoglobine. Si au contraire on étend une portion du mélange avec de l'eau, il se colore aussitôt en brun, car il se forme immédiatement de la méthémoglobine ; en revanche, si on étend une autre portion de ce mélange de sang défibriné et de solution concentrée de ferricyanure avec une solution de chlorure de sodium ou de sulfate de soude, la couleur ne change pas ; elle reste rouge vif, et l'on ne peut révéler la présence de la méthémoglobine. Si au lieu de sulfate de soude ou de chlorure de sodium on emploie du chlorate de potasse, le sang reste d'abord rouge ; mais au bout d'un certain temps, l'hémoglobine se décompose ; la couleur passe au brun ; il s'est formé de la méthémoglobine (von Mering).

Si l'on abandonne au repos du sang défibriné après lui avoir ajouté du ferricyanure de potassium, il se divise en deux cou-

ches : la supérieure est constituée par une couche de sérum coloré par de la méthémoglobine ; tandis que la couche inférieure globulaire ne contient que de l'oxyhémoglobine. Si l'on injecte sur le vivant une solution concentrée de ferricyanure de potassium ou de sodium, on n'observe pas, à l'examen du sang pur, les bandes de la méthémoglobine, tandis qu'on les voit bientôt apparaître si l'on ajoute de l'eau au sang (Hayem).

Du sang agité à plusieurs reprises avec de l'alcool et de l'éther, du sang à plusieurs reprises congelé et dégelé, du sang qui commence à se putréfier, une solution récente de cristaux d'oxyhémoglobine, prennent, par l'addition de solutions concentrées de ferricyanure de potassium, une couleur noir brun et présentent le spectre caractéristique de la méthémoglobine. (Von Mering.)

Il résulte de ces expériences qu'il ne se forme de la méthémoglobine, par l'action du ferricyanure sur le sang, que lorsque les globules rouges ont été détruits par un procédé quelconque : addition d'eau, d'éther, de chloroforme, congélation et dégélation, c'est-à-dire lorsque l'hémoglobine des globules s'est dissoute dans le sérum.

En solution concentrée, au contraire, le ferricyanure conserve les globules sanguins et ne peut agir sur leur matière colorante, car elle s'y trouve, non pas à l'état de simple dissolution, mais bien de combinaison chimique ; « il est probable que l'on ne connaît pas encore la matière colorante génuine du globule ; elle semble être plus complexe encore que l'hémoglobine. » (Henninger.)

Le chlorate de potasse exerce, pendant quelque temps, une action conservatrice sur les globules sanguins ; ce n'est qu'après une action suffisamment prolongée que se produit la transformation de l'hémoglobine en méthémoglobine.

Nous avons vu que le nitrite de sodium, au contraire, qu'il soit injecté dans le sang sur le vivant ou qu'il soit ajouté

in vitro à des solutions sanguines, provoque rapidement la transformation de l'hémoglobine en méthémoglobine ; mais que, si l'on n'emploie pas des doses trop fortes, la méthémoglobine disparaît peu à peu sur le vivant et le sang reprend bientôt ses propriétés normales ; toutefois, même administré à petites doses, le nitrite de sodium entraîne la destruction d'un certain nombre de globules sanguins et, par suite, la formation d'un peu de méthémoglobine dissoute. *In vitro*, et dans des solutions sanguines, la production de méthémoglobine est au contraire persistante.

Le nitrite d'amyle, employé en inhalations, provoque dans le sang l'apparition du spectre de la méthémoglobine, lorsqu'il a été absorbé en quantité suffisante ; j'ai déjà indiqué, à propos de l'action des nitrites, que la capacité respiratoire du sang était considérablement diminuée ; mais cette diminution ne peut être observée que lorsque le sang présente les bandes de la méthémoglobine. Si, avant que ces bandes puissent se distinguer dans le sang pur, on ajoute au sang une certaine quantité d'eau, on les voit apparaître très nettes au bout de quelques heures, grâce à la transformation par le nitrite de l'hémoglobine dissoute par l'eau.

Si, comme nous l'avons déjà vu, lorsque le spectre du sang des animaux auxquels on fait respirer le nitrite d'amyle, présente les caractères de la méthémoglobine, on vient à suspendre les inhalations, la méthémoglobine disparaît graduellement et le sang reprend ses propriétés normales, pourvu que l'action du poison n'ait pas été assez énergique ou assez prolongée pour détruire une notable quantité de globules. Le sang exhale encore dans ces conditions l'odeur du nitrite d'amyle, et si l'on vient alors à le diluer avec de l'eau, une partie de l'hémoglobine des globules se dissout et est de nouveau transformée en méthémoglobine qui ne subira plus la transformation inverse.

La méthémoglobine produite sous l'influence du nitrite d'amyle dans l'organisme est persistante quand les globules rouges ont été détruits par l'absorption de trop fortes doses de poison. Toutefois, l'action du nitrite d'amyle serait, à ce point de vue, bien moins énergique et bien moins rapide que celle du nitrite de sodium.

Il est bien établi par ces expériences, comme je l'ai déjà annoncé, que l'hémoglobine dissoute résiste moins à l'action des agents qui produisent de la méthémoglobine que l'hémoglobine renfermée dans les globules ; la transformation de l'hémoglobine dissoute est définitive, tandis que celle de l'hémoglobine des globules rouges est temporaire. La méthémoglobine formée dans l'intérieur de ces globules serait réduite en hémoglobine par l'hémoglobine globulaire et pourrait, par suite, repasser à l'état d'oxyhémoglobine et recouvrer, par conséquent, ses propriétés normales. La méthémoglobine formée dans l'organisme aux dépens de l'hémoglobine dissoute, ne pouvant au contraire subir cette modification, se détruirait en donnant naissance aux mêmes produits d'oxydation que l'hémoglobine, en particulier à de l'urobiline qui se retrouverait dans les urines ; ou bien elle pourrait encore s'éliminer en nature par les reins. (Hayem.)

La combinaison de l'oxygène dans la méthémoglobine étant plus stable que dans l'oxyhémoglobine, il en résulte que la méthémoglobine est impropre à l'hématose, et que les substances qui provoquent son apparition dans le sang d'une façon définitive par la destruction des hématies et la décomposition de leur matière colorante dissoute, diminuent par cela même la capacité d'absorption pour l'oxygène du liquide sanguin et déterminent, par suite, une anémie grave ; tandis que les substances qui ne détruisent pas les globules ne provoquent pas, du moins si on les administre à dose modérée, d'anémie sensible, à cause de la résistance de l'hémoglobine des cor-

puscules sanguins et de la facile transformation de la méthémoglobine globulaire en hémoglobine.

L'abaissement de température constaté dans l'organisme sous l'influence des agents producteurs de méthémoglobine, qui sont pour la plupart des antithermiques, ne serait pas, d'après Hayem, la conséquence de cette transformation de l'hémoglobine.

Se basant sur les données précédentes, Hayem a proposé de diviser les agents producteurs de méthémoglobine en deux classes, d'après leur mode d'action sur le sang.

Dans la première classe il range ceux qui n'altèrent pas les hématies ou ne les altèrent que s'ils sont employés à doses très élevées et qui transforment l'hémoglobine en méthémoglobine à l'intérieur des globules rouges. La mort peut survenir sous l'influence de pareils agents, si, par suite de la dose employée, la quantité de méthémoglobine produite est suffisante pour empêcher l'hématose. A cette classe appartiendrait le nitrite d'amyle (inhalations), le chlorhydrate de kairine.

La deuxième classe renferme au contraire les substances qui exercent sur le globule rouge une action destructive et provoquent dans le sang l'apparition de méthémoglobine dissoute.

Cette classe peut se subdiviser en trois groupes. Le premier groupe comprend les substances qui, comme le nitrite de sodium, l'acide pyrogallique, le permanganate de potassium, l'acide osmique, exercent une action rapide sur les globules sanguins dès qu'elles arrivent en contact avec eux, en détruisent un certain nombre et transforment alors en méthémoglobine l'hémoglobine dissoute, aussi bien que celle qui se trouve dans les hématies non encore attaquées.

Les chlorates (potassium, sodium) formeraient, à cause de leur mode d'action, un deuxième groupe à part. Ils agissent en effet sur le sang avec une certaine lenteur ; administrés à haute dose,

ils produisent la transformation de l'hémoglobine globulaire ; à doses moins fortes et au bout d'un certain temps, ils provoquent, comme les substances du premier groupe, la destruction des globules et l'apparition de la méthémoglobine dans le sérum.

Les médicaments du troisième groupe au contraire ne peuvent causer l'apparition de méthémoglobine globulaire ; ils ne peuvent détruire les globules ; mais ceux-ci une fois altérés et l'hémoglobine une fois dissoute dans le plasma, ils peuvent la transformer en méthémoglobine. Le type des substances de cette classe est le ferricyanure (de sodium ou de potassium).

Il me reste à examiner maintenant ce que devient la méthémoglobine une fois qu'elle a été formée dans le sang sous l'action des causes qui provoquent son apparition définitive, c'est-à-dire son apparition dans le sérum.

Hoppe-Seyler, Mac Munn et autres ont démontré que l'urine contient de la méthémoglobine dans beaucoup de cas d'hémoglobinurie. D'après Hoppe-Seyler même, dans tous les cas d'hémoglobinuries artificielles ou accidentelles, il n'y aurait dans les urines que de la méthémoglobine. Chez des malades atteints d'*hématurie* dite *périodique* ou d'hémoglobinurie, chez les *bœufs hématuriques*, chez des animaux dans le sang desquels on avait injecté des acides biliaires ou de l'eau en grande quantité, chez des animaux sur lesquels on avait opéré une transfusion de sang avec le sang d'une espèce très éloignée dans la série animale, chez des animaux empoisonnés par l'hydrogène arsénié, dans des cas de brûlures étendues, Hoppe-Seyler a constaté la dissolution dans le sérum de la matière colorante du sang, l'hémoglobinhémie, et la présence constante de méthémoglobine et non d'oxyhémoglobine dans les urines. Si l'on trouve souvent de l'oxyhémoglobine, c'est que l'on examine des urines qui se sont corrompues dans la vessie ou ont longtemps séjourné dans des verres, et, par la putréfaction, la méthémoglobine s'est transformée en hémoglobine qui, en

présence de l'oxygène de l'air, passe à l'état d'oxyhémoglobine. Les reins n'éliminent que de la méthémoglobine ; le nom d'hémoglobinurie doit être désormais rejeté et remplacé par celui de méthémoglobinurie. Hoppe-Seyler n'a jamais rencontré d'hématine dans les urines ; mais il a très fréquemment trouvé de la matière colorante biliaire.

D'autres auteurs admettent au contraire que l'hémoglobine se transforme facilement en méthémoglobine dans l'urine et que c'est grâce à cette transformation que l'on a pu constater dans certaines urines, à l'examen spectroscopique, la présence des bandes de la méthémoglobine ; il n'y aurait pas, d'après eux, de méthémoglobinurie proprement dite.

Dans plusieurs cas d'hémoglobinurie paroxystique, Hayem a pu démontrer la présence de méthémoglobine dans les urines immédiatement après leur émission, tandis qu'il n'a pu trouver que de l'oxyhémoglobine dans le sérum du sang des malades.

D'autre part, Hénocque, chez un individu atteint d'hémoglobinurie paroxystique, a pu, dans un accès provoqué, en faisant l'examen de l'urine à 30 minutes d'intervalle, constater l'apparition de la méthémoglobine au sixième examen, et il admet que la transformation s'est faite dans les reins.

Il faut remarquer en outre que l'on peut souvent trouver, comme je l'ai constaté moi-même, de l'oxyhémoglobine dans les urines d'hémoglobinuriques, alors même que ces urines sont examinées immédiatement après la miction et ne présentent aucun signe de putréfaction. Hoppe-Seyler est donc trop absolu quand il prétend que les reins n'éliminent que de la méthémoglobine ; de plus, il a bien constaté de l'hémoglobinhémie dans les cas où les urines présentaient le spectre de la méthémoglobine, mais il n'a pas, dans les mêmes circonstances, constaté de la méthémoglobinhémie, c'est-à-dire la présence de méthémoglobine dans le sérum du sang. Ce serait là cependant une vérification d'une grande importance pour

trancher la question de savoir si la méthémoglobine peut être éliminée en nature par les reins ou si elle se forme dans l'urine ; on a sans doute expérimenté plusieurs substances qui produisent la méthémoglobinhémie ; mais on n'a pas examiné alors les urines d'une façon bien précise au point de vue de la méthémoglobinurie. Il faut observer cependant que Hoppe-Seyler signale l'existence de la méthémoglobine dans les urines, dans les cas d'empoisonnement par l'hydrogène arsénié et que l'on sait d'autre part qu'il pourrait bien se produire dans ces cas de la méthémoglobine dans le sang.

Il me paraît rationnel d'admettre que la méthémoglobine peut dans certaines circonstances être éliminée en nature par les reins, puisqu'il est établi qu'elle peut prendre naissance dans le sang et que d'ailleurs on l'a trouvée fréquemment dans les urines hémoglobinuriques, sans nier pour cela que la méthémoglobine puisse se former dans les urines aux dépens de l'oxyhémoglobine. Cette manière de voir concorde, du reste, avec celle de Hayem qui, comme je l'ai déjà indiqué, pense que la méthémoglobine dissoute dans le sérum sanguin se détruit d'abord pour donner les mêmes produits d'oxydation que l'hémoglobine, entre autres de l'urobiline qui apparaît dans les urines. Si la proportion de méthémoglobine devient plus forte, la méthémoglobine peut s'éliminer par les reins et il se produit alors de la méthémoglobinurie.

CHAPITRE IV

RECHERCHE ET DOSAGE DE LA MÉTHÉMOGLOBINE

On peut le plus souvent reconnaître directement à l'examen spectroscopique la présence de méthémoglobine dans un liquide suspect ; comme on a généralement affaire dans les examens de cette nature à un mélange d'oxyhémoglobine et de méthémoglobine, on reconnaît cette dernière substance à sa bande d'absorption dans le rouge ; il faut remarquer pourtant que cette bande n'apparaît que pour une certaine proportion de méthémoglobine observée et que de la méthémoglobine peut exister dans un liquide sans que l'on puisse cependant y déceler sa présence à l'aide de ce procédé de recherche. C'est ce dont on peut du reste facilement s'assurer (comme je l'ai fait moi-même) en mélangeant dans des proportions convenables des solutions d'oxyhémoglobine et de méthémoglobine, et constatant qu'il n'est pas alors possible de distinguer la bande dans le rouge ; il en est naturellement de même si on place entre la source lumineuse et la fente du spectroscope deux cuves à épaisseur variable contenant, l'une de la méthémoglobine, l'autre de l'oxyhémoglobine et que l'on diminue suffisamment l'épaisseur de la première solution que doit traverser la lumière.

Si de la méthémoglobine se produit en faible quantité dans l'organisme, il sera difficile de démontrer sa présence dans le sang ; car, pour regarder le sang au spectroscope, il faudra l'examiner en couche très mince ou encore le diluer fortement, à cause de son grand pouvoir absorbant, et dans ces conditions

la petite proportion de méthémoglobine qu'il contiendra n'exercera plus sur la lumière d'action suffisante pour qu'on puisse apercevoir la bande dans le rouge du spectre. Hayem a constaté le fait en ajoutant, soit *in vitro*, soit par injection intraveineuse, une petite quantité d'une solution de méthémoglobine à du sang normal, et il n'a pu par l'examen au spectroscope retrouver la méthémoglobine dans le mélange.

« En me fondant sur des expériences directes, ajoute Hayem, je crois pouvoir dire que, par ce mode d'examen, il faut que la méthémoglobine atteigne environ 10 % de la quantité totale de matière colorante pour que le spectre devienne caractéristique. »

Mais quelles sont ces expériences directes? C'est ce que Hayem n'a pas jugé utile de nous indiquer.

Toutefois, si la méthémoglobine se trouve, non pas à l'intérieur des globules rouges, mais dans le sérum, et c'est le cas dans les injections intra-veineuses de méthémoglobine, il sera facile d'en reconnaître de faibles traces au spectroscope ; il suffira pour cela de laisser coaguler le sang et d'examiner ensuite le sérum pur.

Hoppe-Seyler indique un procédé pour la recherche de la méthémoglobine basé sur ce fait que le sous-acétate de plomb précipite la méthémoglobine de ses solutions ; « si la raie entre C et D n'est pas suffisamment apparente, on ajoute à la liqueur à examiner de l'acétate triplombique tant qu'il se forme un précipité, on jette le résidu sur un filtre, on le met en suspension dans l'eau et l'on ajoute peu à peu du carbonate de soude jusqu'à redissolution de la matière colorante ; on sépare ensuite le carbonate de plomb et l'on soumet à l'examen spectroscopique le liquide qui passe à la filtration. » Ce procédé pourrait s'appliquer à un mélange d'oxyhémoglobine et de méthémoglobine, puisque, d'après Hoppe-Seyler, l'oxyhémoglobine ne serait pas précipitée par le sous-acétate de plomb. Nous verrons, dans

le chapitre suivant, ce que, d'après mes expériences, il faut penser à cet égard.

Etant donné les procédés de dosage que nous avons à notre disposition, et la facile transformation de la méthémoglobine globulaire en hémoglobine dans l'organisme, il est, je crois, à peu près impossible d'apprécier la quantité de méthémoglobine qui se forme dans le sang sous l'influence de certains agents; mais l'on peut, à l'aide des procédés spectrophotométriques, déterminer assez exactement la quantité de méthémoglobine qui se trouve dans une solution de cette substance ou même dans un mélange de deux solutions d'oxyhémoglobine et de méthémoglobine.

Il suffit pour cela de connaître les constantes photométriques de la méthémoglobine. Hüfner et Otto, ayant obtenu de la méthémoglobine de porc pure et cristallisée, purent en faire des solutions aqueuses de concentration connue et déterminer ainsi les rapports d'absorption $A_m A'_m$ pour les régions D 32 E - D 53 E et D 63 E - D 84 E; ils les trouvèrent égaux à 0,002602 et 0,001990, tandis que pour ces mêmes régions les constantes $A_0 A'_0$ de l'oxyhémoglobine seraient, d'après von Noorden, égales à 0,001324 et 0,001000.

Connaissant les valeurs de A_m et A'_m, on pourra maintenant déterminer le degré de concentration d'une solution de méthémoglobine; il faudra d'abord s'assurer que la solution ne contient pas d'autre matière colorante que la méthémoglobine, en examinant le liquide sous des épaisseurs variables, et mesurant chaque fois au spectrophotomètre, les coefficients d'extinction pour les deux mêmes régions spectrales; le rapport de ces coefficients devra être constant.

S'il en est ainsi, il suffira, pour connaître le degré de concentration de la solution aqueuse de méthémoglobine, de l'examiner au spectrophotomètre sous une épaisseur connue *m* et de mesurer dans la région spectrale D 63 E - D 84 E qui corres-

pond à la deuxième bande de l'oxyhémoglobine, l'intensité lumineuse I' de la lumière qui a traversé un pareil milieu.

Si l'on emploie le spectrophotomètre de Hüfner ou celui de M. Crova, cette intensité I' sera donnée par la formule :

$$I' = I\cos^2\alpha$$

dans laquelle I représente l'intensité lumineuse primitive et α l'angle des sections principales de l'analyseur et du polariseur.

Connaissant I' on pourra calculer le coefficient d'extinction ε et par suite la concentration, c'est-à-dire le poids de méthémoglobine dissoute dans un centimètre cube de la solution.

Si en effet on pose égale à l'unité, l'intensité lumineuse primitive I, on a :

$$\varepsilon = -\frac{\log I'}{m}$$

ou $$\varepsilon = -\log I'$$

si l'on examine la solution sous une épaisseur de un centimètre.

La concentration c est donnée par la formule :

$$c = A'_m\,\varepsilon$$

Si l'on veut au contraire déterminer la quantité de méthémoglobine contenue dans un mélange d'oxyhémoglobine et de méthémoglobine, il faudra déterminer les coefficients d'extinction E_1, E_2 du mélange dans les deux régions D 32 E - D 53 E et D 63 E - D 84 E, et l'on aura, en appelant x la concentration de la méthémoglobine :

$$x = \frac{A_m\,A'_m\,(E_2\,A'_0 - E_1\,A_0)}{A'_0\,A_m - A_0\,A'_m}.$$

La concentration de l'oxyhémoglobine serait également donnée par la formule

$$y = \frac{A_0\,A'_0\,(E_1\,A_m - E_2\,A'_m)}{A'_0\,A_m - A_0\,A'_m}.$$

Il est évident que si la solution a été diluée pour l'examen spectroscopique, il suffira pour avoir la concentration primitive de multiplier les valeurs de x et de y par le degré de dilution.

Ce procédé de dosage a été employé par Otto, Hüfner et Külz pour déterminer, par des moyens détournés que j'ai déjà étudiés dans un chapitre précédent, la relation qui existe entre les quantités d'oxygène contenues dans l'oxyhémoglobine et dans la méthémoglobine.

Il faut remarquer toutefois que les constantes photométriques indiquées à ce propos par Otto, pour la méthémoglobine de porc dans les régions spectrales ci-dessus désignées, diffèrent sensiblement de celles qu'avait primitivement indiquées Hüfner, lors de la découverte de la méthémoglobine cristallisée. Il y aurait donc là une nouvelle détermination à faire qui serait d'une grande utilité au point de vue du dosage de la méthémoglobine, car le spectrophotomètre permettrait d'obtenir des résultats exacts, si l'on pouvait être sûr des constantes.

Enfin Hüfner et Külz ont déterminé les constantes A_{am} A'_{am} de la méthémoglobine du porc en solution alcaline, dans les mêmes régions du spectre et ont trouvé, comme moyennes, des résultats de plusieurs expériences les valeurs 0,001654, 0,001412 qui sont dans le rapport 1,17 ; Hüfner a établi que ce rapport était le même pour la méthémoglobine alcaline du chien. On pourrait donc considérer la valeur de ces constantes comme exacte et les employer pour des expériences de dosage en ayant recours aux procédés que je viens d'exposer.

CHAPITRE V

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES

Je m'efforcerai de suivre autant que possible, dans ce chapitre, les divisions que j'ai déjà établies dans la première partie de cet ouvrage.

Modes de production de la méthémoglobine. — J'ai d'abord vérifié la production de méthémoglobine par l'action de certains agents, tels que : permanganate de potasse, ferricyanure de potassium, eau iodée, chlorate de potasse. Les deux dernières substances agissent bien moins rapidement que les deux premières. Avec le chlorate de potasse surtout la transformation est très lente, tandis qu'elle est presque instantanée avec le ferricyanure. Toutefois l'action du ferricyanure est bien moins prompte sur les solutions d'hémoglobine oxycarbonée qu'il transforme également en méthémoglobine.

J'ai encore vérifié que si on laisse exposé à l'air un papier filtre imbibé d'une solution d'oxyhémoglobine, ce papier présente au bout de quelques jours une coloration brune ; l'oxyhémoglobine qu'il contenait est passée à l'état de méthémoglobine. Il suffit pour s'en assurer de faire détremper le papier filtre dans l'eau distillée, de filtrer la solution ainsi obtenue et de l'examiner ensuite au spectroscope ; on distingue alors très nettement le spectre de la méthémoglobine acide, ou, après l'addition de quelques gouttes d'ammoniaque, le spectre de la méthémoglobine alcaline, ou encore, après l'addition de sulfure ammonique, le spectre de l'hémoglobine réduite.

J'ai fait une étude plus approfondie du spectre et de quelques réactions de la méthémoglobine. J'ai d'abord essayé de déterminer d'une façon bien exacte les positions et le nombre des bandes d'absorption des modifications acides et alcalines de la méthémoglobine et je me suis ensuite occupé de différencier à l'aide de ses apparences spectrales cette dernière substance de l'hématine dont le spectre en solution acide présente de grandes ressemblances avec celui de la méthémoglobine également acide.

Spectre de la méthémoglobine acide. — En premier lieu, quel est le nombre des bandes d'absorption de la méthémoglobine acide ? Nous avons vu quelles sont les divergences à cet égard, et nous avons vu aussi qu'il nous était impossible de rien conclure de certain des preuves de toute nature données par les divers auteurs à l'appui de leurs opinions respectives.

Si l'on transforme à l'aide d'un peu de ferricyanure de potassium ou encore à l'aide de permanganate, ou bien par un moyen quelconque, une solution d'oxyhémoglobine en méthémoglobine, dans une cuve placée devant la fente du spectroscope, on voit peu à peu les deux bandes de l'oxyhémoglobine (Pl. II, fig. 1) s'estomper et s'atténuer considérablement, tandis qu'apparaît une bande dans le rouge ; de plus si la solution est suffisamment étendue, on aperçoit une quatrième bande dans le bleu. La couleur de la solution est devenue brune. Le spectre de la méthémoglobine paraît alors constitué par quatre bandes, mais les deux bandes intermédiaires ne sont-elles pas dues à un reste d'oxyhémoglobine non décomposée ?

Je crois pouvoir affirmer qu'il n'en est rien : et d'abord quelle que soit la proportion de ferricyanure ajoutée à la solution d'oxyhémoglobine, quelle que soit la durée de son action, les deux bandes sont toujours visibles dans le spectre. Elles ne disparaissent que pour une dilution très grande ou

une épaisseur très faible de la solution de méthémoglobine observée, et la bande dans le rouge, elle-même, ne peut plus alors se distinguer. De plus ces deux bandes ne présentent pas le même aspect que celles qui leur correspondent dans l'oxyhémoglobine : c'est ainsi que la première, c'est-à-dire la plus rapprochée de D, est moins foncée que la seconde ; c'est ainsi que si l'on diminue graduellement l'épaisseur du liquide interposé sur le trajet des rayons lumineux, les deux bandes disparaissent presque simultanément, la deuxième diminuant plus rapidement d'intensité que la première ; il est évident que l'on observe les phénomènes inverses si l'on augmente l'épaisseur au lieu de la diminuer ; dans les solutions d'oxyhémoglobine au contraire, c'est la deuxième bande qui est la moins foncée et c'est elle qui disparaît la première. Pour une épaisseur convenable on peut apercevoir très nettement la première alors que la seconde se distingue à peine. Mais une expérience plus probante est la suivante : J'ai examiné au spectroscope une solution d'hémoglobine oxycarbonée ; on sait que les deux bandes de l'hémoglobine oxycarbonée n'occupent pas exactement la même position que celle de l'oxyhémoglobine ; elles sont un peu plus rapprochées de E. La première de ces bandes correspondait aux divisions 100-107 $^1/_2$ de mon micromètre ; elle était très noire de 103 à 106 et avait son milieu à 104 $^1/_2$. La seconde correspondait aux divisions 111 $^1/_2$ - 120 $^1/_2$ elle avait son milieu à 116 (Pl. II, fig. 2). J'ai alors ajouté à la solution un fragment de ferricyanure de potassium ; les deux bandes de l'hémoglobine oxycarbonée se sont peu à peu estompées pendant qu'apparaissaient les bandes dans le rouge et dans le bleu, et le spectre s'est bientôt montré absolument identique à celui de la méthémoglobine obtenue à l'aide d'une solution d'oxyhémoglobine ; les deux bandes intermédiaires n'occupaient plus, en effet, la place de celles de l'hémoglobine oxycarbonée ; elles s'étaient déplacées

du côté de D, si bien que la première correspondait très approximativement aux divisions 100-104 $^1/_2$ et avait son milieu vers 102, tandis que la deuxième commençait à 110. Si je traitais la solution de méthémoglobine ainsi obtenue par l'ammoniaque et le sulfure ammonique, j'obtenais de nouveau le spectre de l'hémoglobine oxycarbonée. Il me paraît rationnel d'admettre que si les deux bandes moyennes du spectre de la méthémoglobine étaient réellement dues à un reste d'oxyhémoglobine non décomposée, ces deux bandes devraient occuper la place de celles de l'hémoglobine oxycarbonée lorsqu'on emploie des solutions de cette substance pour obtenir la méthémoglobine, et je considère par suite le spectre de la méthémoglobine acide comme formé de quatre bandes (Pl. II, fig. 3 et Pl. III, fig. 1). La première est assez foncée ; elle est située dans le rouge et pour une dilution convenable de la solution elle est comprise entre les divisions 87 et 92 du micromètre ; son milieu correspond à 89 $^3/_4$; c'est-à-dire à une longueur d'onde de 633 millionièmes de millimètre. La deuxième très peu marquée correspond aux divisions 100-105 : elle a son milieu à 102 $^1/_2$ ce qui équivaut à une longueur d'onde de 580 millionièmes de millimètre ; la troisième au contraire, plus marquée que la précédente, moins foncée que la première, s'étend de 110 à 120 ; elle est moins nettement délimitée du côté 120 que du côté 110 ; son milieu coïncide avec la division 115 = 538,5 millionièmes de millimètre. Enfin la quatrième bande, plus foncée que les deux précédentes, est très estompée sur ses bords, elle correspond approximativement à l'espace compris entre les divisions 123 $^1/_2$ et 138 du micromètre ; son milieu est situé vers 131 = 500 millionièmes de millimètre. Ces valeurs sont sensiblement les mêmes que celles qui ont été déterminées par Jæderholm (631, 580, 539, 500 millionièmes de millimètre). Si l'on examine les solutions de méthémoglobine sous une

épaisseur de plus en plus grande, ou si l'on a recours à des solutions de plus en plus concentrées, l'extrémité la plus réfrangible du spectre, qui était tout à l'heure éclairée jusque vers 155, s'obscurcit peu à peu pendant que les bandes se foncent ; la quatrième bande, puis la troisième, disparaissent bientôt dans cette région obscure ; la première s'élargit de plus en plus, et s'étend successivement de 86 à 94, de 85 à 95. Pour une épaisseur ou une concentration suffisante, il ne passe plus que de la lumière rouge.

J'ai pu, du reste, à l'aide du spectrophotomètre de Hüfner, perfectionné par M. Crova (1), mesurer pour des λ différents l'intensité lumineuse transmise à travers une solution de méthémoglobine considérée sous une épaisseur constante.

Pour cela j'ai placé la section principale de l'analyseur à 45° de celle du polariseur et j'ai réglé mon instrument de façon à produire l'égalité de teinte des plages correspondantes des deux spectres qu'il fournit. L'intensité lumineuse alors transmise était proportionnelle à $\sin^2 45$; je l'ai prise pour unité, puis j'ai interposé une solution de méthémoglobine sur le trajet du faisceau lumineux qui tombe directement sur le prisme à vision directe, sans traverser l'analyseur et le polariseur, et j'ai mesuré pour des régions différentes, le complément β de l'angle α que devaient faire entre elles les deux sections principales de l'analyseur et du polariseur pour reproduire l'égalité de teinte ; on a alors :

$$I' = \frac{\sin^2 \beta}{\sin^2 45}$$

Je me suis servi pour calculer les valeurs de $\frac{\sin^2 \beta}{\sin^2 45}$ de la table donnée par M. Malosse, dans sa thèse de doctorat.

---

(1) Voir: *De la transmission de la lumière par les dissolutions colorées et de son application analytique*, par Théodore Malosse. (Thèse de doctorat, Montpellier, 1886, N° 23).

Ayant pris pour unité l'intensité primitive, j'ai pu calculer l'affaiblissement de cette intensité pour différentes régions et dresser ainsi les courbes (Pl. I, fig. 1 et fig. 2, trait plein) dont les abscisses représentent les longueurs d'onde et les ordonnées, les affaiblissements correspondants de l'intensité lumineuse. La courbe de la fig. 1 correspond à une solution de méthémoglobine très étendue, tandis que celle de la fig. 2 correspond à une solution moyennement concentrée.

J'ai dressé de la même façon les courbes des spectres de l'hématine en solution très étendue (Pl. I, fig. 3, ou moyennement concentrée, Pl. I, fig. 4, pointillé) dans l'alcool acidulé par l'acide sulfurique. Je donne, tableaux I, II, III, IV, les différentes valeurs de I′ correspondant à différents λ, valeurs qui m'ont servi pour le tracé de mes courbes. J'insisterai plus loin sur la comparaison des spectres que figurent ces courbes.

Spectre de la méthémoglobine alcaline. — Je me suis ensuite occupé de l'étude du spectre de la méthémoglobine alcaline. Il suffit pour obtenir ce spectre d'ajouter quelques gouttes d'une solution de potasse caustique ou d'une solution ammoniacale à la méthémoglobine acide. On voit aussitôt les deux bandes intermédiaires se foncer de plus en plus, tandis que la bande dans le rouge disparaît, ainsi que celle dans le bleu ; en même temps se montre une troisième bande entre C et D, tout près de D. La couleur de la solution est alors redevenue rouge. Le spectre de la méthémoglobine alcaline est donc constitué par trois bandes (Pl. II, fig. 4, et Pl. III, fig. 2) ; la première, peu foncée, est comprise entre les divisions 93 et 100 de mon micromètre ; elle a son milieu à 96 $^1/_2$ qui correspond à une longueur d'onde de 603 millionièmes de millimètre ; la deuxième, plus foncée que la première, n'est cependant pas très noire, elle s'étend de 100 à 106, et son milieu correspond à 103 ou à une longueur d'onde de 578,5 millionièmes de

millimètre ; enfin la troisième, qui est peut être un peu plus foncée que la seconde, mais qui en tout cas présente à ce point de vue peu de différence avec elle, est comprise entre les limites 110-120. Elle a son milieu à 115, ce qui équivaut à une longueur d'onde de 538,5 millionièmes de millimètre. (Les chiffres donnés par Jæderholm sont 602, 578, 539 millionièmes de millimètre). Les bandes 1 et 2 sont juxtaposées et en réalité le spectre est notablement obscurci de 93 à 106 ; toutefois ce qui montre bien qu'il s'agit ici de deux bandes, c'est que la plage ainsi obscurcie présente deux maxima d'obscurité et que la partie comprise entre 98 et 100 est notablement plus éclairée que les régions voisines.

Si l'on considère la solution sous une grande épaisseur ou si l'on emploie des solutions suffisamment concentrées, les deux premières bandes tendent à se confondre, mais présentent cependant encore une séparation assez nette.

La deuxième et la troisième bande occupent sensiblement la place des deux bandes α et β de l'oxyhémoglobine, ces deux bandes ne seraient-elles pas dues à un reste d'oxyhémoglobine ou à une transformation partielle de la méthémoglobine en oxyhémoglobine, lors de l'addition d'ammoniaque ou de potasse? Une pareille interprétation ne peut guère, nous l'avons déjà vu, être admise. L'aspect des deux bandes (2 et 3) n'est pas en effet le même que celui des bandes correspondantes de l'oxyhémoglobine, puisque la bande 3 est plutôt plus foncée que la bande 2 et que toutes deux disparaissent sensiblement ensemble, lorsqu'on diminue graduellement l'épaisseur. J'ai de plus constaté ce que Jæderholm avait déjà indiqué avant moi, c'est que les deux bandes 2 et 3 du spectre de la méthémoglobine alcaline occupent absolument la même place, que cette méthémoglobine ait été obtenue à l'aide d'une solution d'oxyhémoglobine, ou encore à l'aide d'une solution d'hémoglobine oxycarbonée. Dans ce dernier cas, on peut, en

réduisant la méthémoglobine par le sulfure ammonique, reproduire le spectre de l'hémoglobine oxycarbonée et constater très nettement que les deux bandes se déplacent vers E, en même temps qu'elles deviennent plus noires et que la première bande disparaît. Les deux bandes 2 et 3 ne sont donc pas dues à de l'hémoglobine oxycarbonée ou oxydée non décomposée et font bien partie du spectre de la méthémoglobine alcaline.

Spectres de l'hématine acide ; leur différenciation d'avec le spectre de la méthémoglobine acide. — Etant bien fixé sur les apparences spectrales des deux modifications acide et alcaline de la méthémoglobine, je m'occupai de la différenciation de cette substance d'avec l'hématine, dont le spectre en solution acide présente de grandes analogies avec celui de la modification correspondante de la méthémoglobine. Il faut remarquer toutefois que la position des bandes dans la méthémoglobine acide est absolument constante, quel que soit le moyen employé pour obtenir cette méthémoglobine. Nous allons voir qu'il n'en est nullement de même avec l'hématine acide, et nous verrons en particulier que la position de la bande dans le rouge peut varier de quantités assez notables suivant la nature du dissolvant ; il serait fort possible que l'on n'eût pas toujours affaire ici à des composés identiques.

Une solution d'hématine pure dans l'alcool acidulé par l'acide sulfurique possède sous une faible épaisseur une coloration brune ; examinée au spectroscope, elle présente les apparences suivantes (Pl. II, fig. 5) ; on distingue d'abord très nettement une bande noire dans le rouge, qui est comprise entre les divisions 88-95 du micromètre ; son milieu correspond à la division 91 ; le spectre présente ensuite un léger obscurcissement à partir de la division 100 ; cet obscurcissement reste sensiblement uniforme jusqu'à la division 110, où il devient

brusquement plus complet ; il ne passe plus de lumière à partir de 130. Si on dilue fortement la solution, le spectre s'éclaircit considérablement et présente alors des ombres à 89-93, 100-105, 111-120, 124-138 (Pl. II, fig. 6). Toutefois ces bandes sont peu obscures et ne se distinguent que vaguement.

Le spectre de l'hématine, en solution dans l'alcool acidulé par SO^4H^2, ressemble sans doute beaucoup à celui de la méthémoglobine acide ; mais il en diffère pourtant et par la position et par la teinte de ses bandes. Dans le spectre de l'hématine en solution dans l'alcool acidulé par l'acide sulfurique, la bande dans le rouge est plus rapprochée de D que celle de la méthémoglobine ; de plus cette bande paraît moins foncée parce que les plages voisines sont moins lumineuses ; il en est de même des autres bandes qui sont bien moins nettes, bien moins tranchées que celles de la méthémoglobine ; le spectre de l'hématine paraît en quelque sorte plus effacé, plus estompé ; il y a moins de contraste entre les parties obscures et les parties lumineuses ; les courbes figurées (Pl. I) permettent du reste de se rendre compte de ces différences, et l'on peut fort bien, avec un peu d'habitude, distinguer à première vue, d'après les différents caractères que je viens d'indiquer, une solution d'hématine acide et de méthémoglobine. Les réactions de ces deux substances viendront ensuite confirmer le diagnostic.

Une solution d'hématine pure dans l'alcool acidulé par l'acide chlorhydrique présente un spectre (Pl. II, fig. 7) différant peu du précédent par ses allures. Toutefois la bande dans le rouge n'occupe pas exactement la même position ; elle est comprise entre 85 et 91 $^1/_2$; elle a son milieu à 88 et est par conséquent plus rapprochée de C que celle de la méthémoglobine ; on observe en outre pour une forte concentration de la solution un obscurcissement du spectre qui commence à 96 $^1/_2$, augmente brusquement à 107 pour être complet vers 110. Au contraire pour une forte dilution (Pl. II, fig. 8) on distingue vaguement

4 ombres plutôt que 4 bandes; la première a son milieu vers 88; la deuxième, vers 99; la troisième, la plus distincte, est comprise entre 107 et 120; la quatrième s'étend environ de 125 à 135; elle est très estompée du côté 135. Ce spectre se distingue plus facilement encore que le précédent de celui de la méthémoglobine et par son aspect général et par la position de ses bandes.

Spectres des solutions sanguines traitées par les acides; leur différenciation d'avec le spectre de la méthémoglobine acide; action des acides sur le sang. — J'ai étudié ensuite les spectres que présentent des solutions sanguines ou des solutions d'oxyhémoglobine, traitées par des acides et j'ai pu constater qu'ils sont tous assez faciles à distinguer de celui de la méthémoglobine; j'ai pour m'en assurer examiné l'action d'un certain nombre d'acides, et l'on pourra remarquer, d'après les résultats de mes expériences, que les spectres diffèrent notablement entre eux, suivant l'acide employé et se distinguent aussi très nettement des spectres de l'hématine pure en solution alcoolique acide.

J'ai ajouté à une solution de sang de porc quelques gouttes d'acide sulfurique; la solution, examinée au spectroscope, a aussitôt présenté (Pl. II, fig. 9) une bande noire, comprise entre les divisions 81 $^1/_2$-90 du micromètre; cette bande, très foncée de 82 $^1/_2$ à 89, avait son milieu à 85 $^1/_2$. La région comprise entre la partie la moins réfrangible du spectre et le bord 81 $^1/_2$ de la bande était peu lumineuse; de plus on pouvait apercevoir un léger obscurcissement qui commençait à 95, augmentait brusquement à 102 et était complet à 105. Pour une forte dilution de la solution, la bande dans le rouge s'étend de 83 à 88; la région 95-105 devient lumineuse, l'extinction n'est totale qu'à 145; mais il existe toujours une plage légèrement obscurcie à partir de 105.

A la même solution sanguine que ci-dessus examinée sous la même épaisseur, j'ai ajouté quelques gouttes d'acide chlorhydrique ; j'ai aperçu alors une bande dans le rouge 80-90 (milieu 85), un léger obscurcissement à partir de 95, qui devient brusquement plus intense à 102, pour être complet aux environs de 103. Si on dilue la solution, la bande dans le rouge est successivement comprise entre les limites 80-89, 80-88, 81-86, tandis que le spectre s'éclaire de plus en plus au-delà de 102 ; mais à partir de 102 l'intensité lumineuse diminue toujours brusquement.

A la même solution sanguine, toujours examinée sous la même épaisseur, j'ai ajouté un peu d'acide acétique. La bande dans le rouge occupait alors la position 83-90 $^1/_2$ (milieu 87), l'obscurcissement commençait à 95 pour être brusquement complet à 107; si l'on diluait la solution, on pouvait toujours observer à 107 une diminution brusque d'intensité lumineuse.

A la même solution sanguine observée dans les mêmes conditions, j'ai encore ajouté un peu d'acide tartrique. La bande dans le rouge occupe alors la position 82 $^1/_2$-90 $^1/_2$, elle a son milieu à 86 $^1/_2$, on peut observer à 96 une diminution notable de l'intensité lumineuse, diminution qui s'accentue rapidement à 107.

En ajoutant à des solutions sanguines de l'acide salicylique cristallisé, j'ai constaté que la bande d'absorption dans le rouge occupait la position 84 $^1/_2$-90, milieu 87 $^1/_2$; la plage obscure commençait à 97 ; l'extinction était complète à 107.

Avec l'acide oxalique l'aspect du spectre est sensiblement le même : bande 84 $^1/_2$-90, milieu 87, plage obscure à partir de 96 $^1/_2$, obscurité brusquement plus complète à 107, extinction vers 130.

Il résulte de ces expériences que la bande dans le rouge, considérée comme faisant partie du spectre de l'hématine, occupe des positions bien différentes suivant que l'on a affaire

à des solutions d'hématine pure dans l'alcool ou d'hématine obtenue par l'action des acides sur le sang, c'est-à-dire d'hématine dissoute dans des solutions contenant des matières albuminoïdes. La position de cette bande varie aussi suivant la nature de l'acide; il serait donc fort possible que l'on eût affaire, dans ces conditions, à des composés différents.

Je ferai remarquer en passant, à propos de l'action des acides sur le sang, qu'il ne se produit pas seulement, en pareille circonstance, de l'hématine ou que du moins pour que la transformation de l'oxyhémoglobine en hématine soit complète, il faut sans doute, comme le signale Hoppe-Seyler, faire agir simultanément la chaleur. Nous avons vu également signalé que par l'action d'acides suffisamment étendus sur l'oxyhémoglobine on obtenait de la méthémoglobine; j'ai observé, dans les expériences que je viens de rapporter, qu'il se produisait généralement, en même temps que de l'hématine, de la méthémoglobine; si, en effet, l'on ajoute à des solutions sanguines, modifiées par l'action des acides, un peu d'ammoniaque, il se forme un précipité qui doit sans doute contenir une partie de l'hématine produite et le liquide présente un spectre confus qui rappelle celui de la méthémoglobine alcaline; mais ce spectre est moins net, les bandes ne se détachent que faiblement sur un fond uniformément assombri; elles paraissent même le plus souvent, si l'on examine le liquide sous une épaisseur suffisante, superposées à celle de l'hématine alcaline. De plus, si l'on ajoute alors à la solution un peu de sulfure ammonique on voit apparaître les deux bandes de l'hémochromogène sur le fond obscur de la bande de Stockes en même temps qu'il se montre dans le rouge une bande sur laquelle je reviendrai tout à l'heure et qui fait partie du spectre de l'hémoglobine réduite par le sulfhydrate d'ammoniaque. Il est donc probable qu'il s'est formé simultanément dans ces

conditions de l'hématine et une proportion variable de méthémoglobine. Toutefois la question nécessite, pour être définitivement tranchée, de nouvelles expériences, et je me propose de la reprendre plus tard.

Je dois signaler pourtant à l'appui de ma manière de voir l'expérience suivante : J'ai pris une solution d'hématine pure dans l'alcool acidulé par l'acide chlorhydrique; elle présentait le spectre que j'ai déjà décrit ci-dessus; la bande dans le rouge s'étendait de 85 à 91 $^1/_2$. J'ai pris également une solution de méthémoglobine obtenue en traitant par le ferricyanure de potassium une solution de cristaux d'oxyhémoglobine de sang de cheval ; la solution de méthémoglobine avait été additionnée d'un peu d'alcool, elle présentait le spectre que j'ai déjà dépeint; la bande dans le rouge était comprise entre les divisions 87-92 du micromètre. J'ai essayé, sur deux échantillons de ces solutions d'hématine et de méthémoglobine, les réactions caractéristiques sur lesquelles je reviendrai tout à l'heure, c'est-à-dire que je leur ai ajouté successivement de l'ammoniaque et du sulfure ammonique ; j'ai ainsi obtenu avec la première, d'abord le spectre de l'hématine alcaline, puis le spectre de l'hémochromogène, avec la seconde, le spectre de la méthémoglobine alcaline, puis celui de l'hémoglobine réduite. J'ai alors mélangé avec précaution deux échantillons de mes deux solutions primitives, et le spectre qu'a présenté le mélange différait notablement des spectres de l'hématine et de la méthémoglobine acides. La bande dans le rouge s'étendait en effet de 83 à 90; elle avait son milieu à 86; la plage située entre l'extrême rouge et la division 83 était peu éclairée. Le spectre présentait, en outre, un obscurcissement à 95, qui augmentait brusquement à 106 pour être complet à 140; il offrait par suite assez d'analogie avec celui des solutions sanguines traitées par les acides. Si, de plus, on ajoutait au mélange des deux solutions d'hématine et de méthémoglobine un peu d'ammoniaque,

on pouvait observer au spectroscope un spectre qui ressemblait un peu à celui de la méthémoglobine alcaline ; mais il était moins net, les bandes étaient moins distinctes, il semblait en un mot que le spectre de la méthémoglobine alcaline fût superposé à celui de l'hématine alcaline. En effet, pour une concentration suffisante on apercevait une ombre qui s'étendait à peu près uniforme de 86 $^1/_2$ à 100 pour augmenter brusquement à 100 d'abord et à 110 ensuite ; en diluant, la première ombre s'estompait, finissait par disparaître presque complètement et il restait alors deux bandes, 100-105, 110-120, très estompées et séparées par une plage peu lumineuse. Enfin, par l'addition de sulfure ammonique, on obtenait simultanément de l'hémochromogène et de l'hémoglobine réduite, comme on pouvait s'en rendre compte au spectroscope; car on voyait alors les deux régions, 100-105, 110-120, s'obscurcir de plus en plus; puis entre ces deux bandes en apparaissait bientôt une troisième et l'on avait au bout d'un instant le spectre de l'hémochromogène superposé à la bande de Stockes, ainsi qu'une bande dans le rouge caractéristique de l'hémoglobine réduite par le sulfhydrate d'ammoniaque.

On pourrait, il est vrai, objecter ici que les apparences spectrales que j'ai observées, et qui concordent assez exactement avec celles des solutions sanguines traitées par les acides, ne sont nullement dues à un mélange de méthémoglobine et d'hématine, parce que l'acide chlorhydrique de la solution alcoolique d'hématine aurait décomposé la méthémoglobine. Il faut remarquer toutefois que la quantité d'acide chlorhydrique que j'avais ajoutée à ma solution d'hématine était très faible ; de plus j'ai fait une nouvelle expérience qui consistait à ajouter un peu d'acide chlorhydrique à une solution de méthémoglobine additionnée d'alcool comme la précédente. Je n'ai pas obtenu dans ces conditions les mêmes apparences spectrales, puisque je n'avais plus alors, à proprement parler, de bande dans le rouge,

mais bien un obscurcissement assez intense du spectre depuis son origine du côté du rouge jusqu'à 88. A 95 commençait une plage légèrement ombrée qui devenait brusquement plus foncée à 105.

Quoi qu'il en soit, et quelle que soit l'explication que l'on puisse donner des phénomènes que je viens de décrire, il n'en reste pas moins établi que le spectre de la méthémoglobine acide se distingue assez nettement, par l'aspect et la position de ses bandes, de celui du sang traité par différents acides. Sans doute, lorsqu'on additionne de quelques gouttes d'acide, des solutions sanguines, la bande dans le rouge se déplace si nettement, suivant la nature de l'acide, que l'on pourrait admettre qu'elle pût dans certains cas occuper absolument la même position que celle de la méthémoglobine ; je n'ai jamais pu observer pareille coïncidence, et, quel qu'ait été le déplacement de la bande, son milieu n'a jamais dépassé 87 $^1/_2$, tandis que le milieu de celle de la méthémoglobine correspond toujours à 89 $^1/_2$. Du reste, je ferai observer que les solutions sanguines traitées directement par les acides ne présentent jamais, à l'examen spectroscopique, les quatre bandes que l'on peut si facilement distinguer dans le spectre de la méthémoglobine. A cet égard, par conséquent, pas de confusion possible. Il n'en est pas absolument de même quand il s'agit de différencier le spectre de la méthémoglobine de celui de l'hématine en solution dans l'alcool acidulé ; les analogies sont ici plus grandes, et il peut être utile d'avoir recours aux diverses réactions de ces deux substances; ce sont ces réactions que j'ai, par suite, vérifiées et étudiées.

Différenciation de la méthémoglobine et de l'hématine par les spectres des solutions alcalines de ces deux substances. — Si l'hématine en solution dans l'alcool acidulé et la méthé-

moglobine en solution acide présentent deux spectres assez semblables, il n'en est plus de même des solutions alcalines de ces deux substances. J'ai déjà décrit le spectre de la méthémoglobine alcaline; celui de l'hématine alcaline en est absolument distinct : il est en effet constitué par une bande unique assez estompée dont l'étendue varie notablement avec la concentration de la solution observée et dont la position ne m'a pas paru absolument fixe. Une solution ammoniacale d'hématine pure examinée au spectroscope présente une bande d'absorption comprise entre les divisions 92 et 102 du micromètre ; cette bande, peu foncée, est mal délimitée du côté 102, et la région qui s'étend depuis 102 jusque vers 130, où l'obscurité est complète, est faiblement éclairée. Pour une concentration plus forte de la solution, la bande occupe l'espace 90-102. La solution est couleur rouge brun.

La solution d'hématine dans la potasse est au contraire brune sous une grande épaisseur, brune verdâtre sous une épaisseur plus faible ; son spectre présente une plage rouge très lumineuse jusqu'à 88 ; la bande s'étend de 88 à 103 environ ; elle est mal délimitée de ce côté, car la région située entre 103 et l'extinction totale, 120 environ, est peu éclairée. (Pl. II, fig. 11.)

Il est donc facile, comme l'ont du reste indiqué la plupart des auteurs, de distinguer la méthémoglobine de l'hématine à l'aide des apparences spectrales des solutions alcalines de ces deux substances; il suffit d'ajouter un peu de potasse ou d'ammoniaque aux solutions acides et d'examiner si la nouvelle solution présente un spectre à trois ou à une seule bande ; je n'ai jamais manqué, dans la série de mes expériences, d'avoir recours à cette réaction, afin de déterminer exactement la nature du composé que j'avais sous les yeux.

Il est une autre réaction non moins exacte et non moins utile qui peut servir de contrôle à la précédente, c'est celle indiquée par Hoppe-Seyler. La méthémoglobine traitée par des agents de réduction passe à l'état d'hémoglobine réduite, tandis que l'hématine se transforme en hémochromogène.

Différenciation de la méthémoglobine et de l'hématine par les modifications qu'elles subissent sous l'influence des agents de réduction. — J'ai à différentes reprises ajouté du sulfure ammonique à des solutions de méthémoglobine alcaline ou acide, et j'ai en effet constamment observé que ces solutions présentaient au bout d'un certain temps le spectre de l'hémoglobine réduite. Toutefois j'ai remarqué qu'il apparaissait dans ces conditions, en même temps que la bande de Stockes, une bande dans le rouge, qui devient de plus en plus nette et de plus en plus foncée ; elle finit par occuper l'espace compris entre 90 et 95 et a son milieu à $92\,^1/_2$ (Pl. II, fig. 12). La couleur de la solution est alors rose. Cette bande, qui est sans doute due à l'action de l'hydrogène sulfuré sur l'hémoglobine, a été du reste déjà signalée comme se produisant lors de la réduction de l'oxyhémoglobine par le sulfhydrate d'ammoniaque. En ajoutant avec précaution un peu de sulfure ammonique à une solution de méthémoglobine acide, placée devant la fente du spectroscope, j'ai pu assister aux transformations successives que subit cette substance, le spectre de la méthémoglobine acide a d'abord disparu pour faire place à celui de la méthémoglobine alcaline ; puis les deux bandes 2 et 3 de ce nouveau spectre sont devenues de plus en plus foncées, pendant que disparaissait à son tour la bande 1 située entre C et D tout près de D, et j'ai observé très nettement le spectre de l'oxyhémoglobine, qui s'est bientôt effacé pour faire place à celui de l'hémoglobine réduite. Les deux bandes de l'oxyhémoglobine reparaissaient quand on agitait la solution à l'air.

J'ai également ajouté du sulfure ammonique à des solutions alcalines d'hématine ; leur coloration passe immédiatement au pourpre brun, tandis que la bande unique de leur spectre se dissipe pour être remplacée par les deux bandes de l'hémochromogène, dont l'une, très noire (105 $^1/_2$-112) a son milieu à 109, tandis que la seconde, moins foncée, s'étend de 117 à 123 environ. (Pl. II, fig. 13.)

D'après les caractères de son spectre, d'après la manière de se comporter de ses solutions sous l'action de l'ammoniaque et du sulfure ammonique, il est facile de distinguer la méthémoglobine de l'hématine.

J'aurais voulu pour compléter ces recherches faire diverses expériences relatives à la production de la méthémoglobine dans l'organisme, à sa transformation dans le courant circulatoire, à son élimination, à sa présence dans les urines et dans certains foyers hémorragiques, à sa recherche, à son dosage, etc.; obligé de hâter la présentation de ma Thèse, j'ai dû momentanément renoncer à faire à ce sujet une étude aussi complète que je l'aurais désiré.

Recherche de la méthémoglobine. — J'ai seulement constaté l'inexactitude du procédé indiqué par Hoppe-Seyler pour la recherche de la méthémoglobine. Le sous-acétate de plomb ne permet pas, en effet, de séparer la méthémoglobine de l'oxyhémoglobine ; il précipite ces deux substances. A deux solutions, l'une de méthémoglobine, l'autre d'oxyhémoglobine, j'ai ajouté du sous-acétate de plomb ; il s'est formé dans les deux cas un précipité ; j'ai recueilli et lavé ces deux précipités, puis je les ai mis en suspension dans l'eau et je les ai traités par du carbonate de soude ; j'ai filtré, et les deux liquides ainsi obtenus ont présenté : l'un le spectre de la méthémoglobine alcaline, l'autre celui de l'oxyhémoglobine.

J'ai également démontré, par l'expérience suivante, que l'on peut, à l'aide du spectrophotomètre, reconnaître d'une façon certaine la présence de méthémoglobine dans un mélange d'oxyhémoglobine et de méthémoglobine, alors que l'examen spectroscopique ne permet pas d'être aussi affirmatif.

J'ai pris pour cela deux solutions d'oxyhémoglobine ; j'ai placé l'une de ces solutions dans une cuve, devant la fente du spectroscope; j'ai divisé l'autre solution, qui était très étendue, en deux parties, A et B, et j'ai transformé l'une de ces parties A en solution de méthémoglobine, à l'aide d'un peu de ferricyanure de potassium. J'ai placé la solution de méthémoglobine ainsi obtenue dans une seconde cuve, entre la première et la source lumineuse, et je me suis assuré que, pour les concentrations des solutions employées, la lumière transmise à travers les épaisseurs observées donnait un spectre qui ne présentait pas de bande d'absorption dans le rouge, ou du moins cette bande, dont on pouvait peut-être soupçonner l'existence, était trop peu visible pour qu'on pût affirmer sa présence. J'ai alors placé les deux mêmes cuves devant la fente du spectrophotomètre réglé comme je l'ai déjà indiqué et disposé de telle façon que le réticule coincidât avec la division 37, milieu de la bande de la méthémoglobine ; seulement j'ai remplacé la solution de méthémoglobine placée dans la deuxième cuve, par la seconde partie B de la solution d'oxyhémoglobine. J'ai dû, pour produire l'égalité de teinte des deux plages rouges du spectre, tourner l'analyseur de façon que son plan de vibration fît avec le plan de polarisation du polariseur un angle β de 35°,18'. J'ai ensuite remplacé, toujours dans la même cuve, la solution d'oxyhémoglobine B par la solution de méthémoglobine indiquée ci-dessus; l'angle β, nécessaire pour produire l'égalité de teinte a été alors trouvé égal seulement à 32°,18'. L'intensité lumineuse transmise, qui dans le premier cas était égale à 0,665, n'était plus dans le second que de

0,597. Cette différence était évidemment due à la différence d'absorption exercée par les solutions d'oxyhémoglobine et de méthémoglobine sur la lumière rouge correspondant à une longueur d'onde de 633 millionièmes de millimètre. Le spectrophotomètre peut donc permettre de reconnaître la présence de méthémoglobine quand cette substance existe en des proportions telles qu'il n'est pas possible de distinguer au spectroscope sa bande d'absorption caractéristique.

Il suffirait pour cela de déterminer le rapport qui existe entre les affaiblissements qu'une solution pure d'oxyhémoglobine fait subir à l'intensité des rayons lumineux dont les longueurs d'onde correspondent à celle du milieu de la bande de la méthémoglobine dans le rouge et à celle du milieu de la première bande de l'oxyhémoglobine par exemple. Connaissant ce rapport, on pourrait vérifier s'il est le même pour la solution que l'on aurait à examiner et se rendre ainsi compte de la présence ou de l'absence de méthémoglobine dans la solution. Il faut toutefois observer que la bande de l'hématine, empiétant fréquemment sur le milieu de celle de la méthémoglobine, on ne pourrait déterminer de la sorte si la solution examinée contient de l'hémoglobine ou de l'hématine ; il faudrait pour cela avoir recours à des opérations plus compliquées.

De la méthémoglobine dans certains liquides de l'organisme. — J'ai eu l'occasion d'examiner au spectroscope un liquide provenant d'un myosarcome de l'ovaire, et que je devais à l'obligeance de M. le professeur Tédenat. Ce liquide présentait très nettement, le lendemain de son extraction, les deux bandes de l'oxyhémoglobine, et je n'ai pu y découvrir la moindre trace de méthémoglobine.

Il en a été de même d'une urine émise par une malade

atteinte de néphrite et que j'ai examinée très peu de temps après le moment de la miction. Cette urine, à réaction acide et qui ne présentait aucun signe de putréfaction, contenait de l'oxyhémoglobine et nullement de la méthémoglobine.

J'ai aussi examiné à plusieurs reprises, et toujours peu de temps après la miction, une autre urine provenant également d'un malade atteint de néphrite et j'y ai constamment trouvé de l'oxyhémoglobine.

Ces expériences viennent infirmer les assertions de Hoppe-Seyler.

CONCLUSIONS

La méthémoglobine est un composé défini qui a été obtenu à l'état cristallin ; elle est par sa constitution analogue à l'oxyhémoglobine ; mais elle est plus stable et paraît n'en différer que par le groupement de ses molécules.

La méthémoglobine se produit lorsqu'on fait agir, sur des solutions sanguines ou des solutions d'oxyhémoglobine, bon nombre d'agents oxydants, ainsi que certains agents réducteurs.

La méthémoglobine, en solution acide, présente un spectre qui est fort analogue à celui de l'hématine dissoute dans de l'alcool acidulé. Il résulte de mes expériences que ce spectre est constitué, contrairement à l'opinion de Hoppe-Seyler, Marchand, Lancaster, Henninger, etc., par quatre bandes dont les milieux correspondent à des longueurs d'onde de 633, 580, 538,5 et 500 millionièmes de millimètre.

Le spectre de la modification alcaline se caractérise par trois bandes dont les milieux correspondent à des longueurs d'onde de 603, 578,5, 538,5 millionièmes de millimètre.

Dans le spectre de l'hématine acide la position de la bande dans le rouge varie avec la nature de l'acide ; je n'ai jamais trouvé cette bande à la même place que celle de la méthémoglobine.

Du reste, les deux spectres, quoique très analogues, ne sont pas identiques, comme le montrent les courbes que j'ai dressées au spectrophotomètre.

Le spectre de l'hématine alcaline est constitué par une seule bande qui varie aussi de position suivant la nature du dissolvant ; ce spectre diffère complètement de celui de la méthémoglobine alcaline, ce qui permet de distinguer facilement ces deux substances.

Les solutions de méthémoglobine traitées par le sulfure ammonique se transforment en solutions d'hémoglobine réduite, tandis que l'hématine se transforme en hémochromogène (caractère distinctif).

Les spectres des solutions sanguines traitées par les acides se distinguent de ceux de l'hématine en solution dans l'alcool acidulé et diffèrent bien plus que ces derniers du spectre de la méthémoglobine acide.

Il est probable que dans l'action de la plupart des acides sur le sang il ne se forme pas seulement de l'hématine, à moins toutefois qu'on ne se place dans des conditions spéciales, qu'on ne fasse, par exemple, intervenir la chaleur.

La méthémoglobine se forme dans l'organisme sous l'action de plusieurs substances toxiques ou médicamenteuses.

L'oxyhémoglobine du globule rouge offre une plus grande résistance à l'action de ces divers agents que l'oxyhémoglobine dissoute dans le plasma.

La transformation de l'oxyhémoglobine dissoute est définitive, tandis que celle de l'oxyhémoglobine globulaire n'est que passagère, la méthémoglobine globulaire repassant assez rapidement à l'état d'hémoglobine.

La méthémoglobine étant un composé plus stable que l'oxyhémoglobine, et ne pouvant céder facilement son oxygène ou le reprendre, il en résulte que les agents qui provoquent dans le sang la formation de méthémoglobine définitive causeront

une anémie grave ou la mort suivant les doses administrées.

La mort pourra également être causée par les agents qui ne forment que de la méthémoglobine globulaire, s'ils sont donnés en proportion telle que la transformation d'hémoglobine en méthémoglobine soit trop considérable ou plus rapide que la transformation inverse.

La méthémoglobine formée dans le plasma peut donner les mêmes produits de décomposition que l'hémoglobine, mais elle peut sans doute aussi être éliminée par les reins et passer en nature dans les urines.

Contrairement à l'opinion de Hoppe-Seyler, les urines hémoglobinuriques ne contiennent pas toujours et uniquement de la méthémoglobine ; elles peuvent aussi ne renfermer, et c'est souvent le cas, que de l'oxyhémoglobine.

De plus, les urines peuvent contenir de la méthémoglobine sans qu'il en existe dans le sang; il peut y avoir méthémoglobinurie sans méthémoglobinhémie. La méthémoglobine se serait alors formée dans les reins ou dans la vessie.

Le procédé indiqué par Hoppe-Seyler pour la recherche de la méthémoglobine à l'aide du sous-acétate de plomb est inexact; le sous-acétate précipite aussi bien l'oxyhémoglobine que la méthémoglobine.

Le spectrophotomètre permet d'affirmer l'existence dans un mélange d'oxyhémoglobine et de méthémoglobine de quantités de ce dernier composé qui ne pourraient se reconnaître au spectroscope.

Le spectrophotomètre permet en outre de doser assez exactement la proportion de méthémoglobine contenue dans un mélange de cette substance et d'oxyhémoglobine.

BIBLIOGRAPHIE

HOPPE-SEYLER. *Einwirkung des Schwefelwasserstoffgases auf das Blut.* In *Centralblatt für die medicinischen Wissenchaften,* 1863, n° 28, S. 433. — DU MÊME. *Ueber die chemischen und optischen Eigenschaften des Blutfarbstoffs.* In *Virchows Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medicin,* 1864, Bd 29, S. 233. — DU MÊME. *Ueber die optischen und chemischen Eigenschaften des Blutfarbstoffs.* In *Centralblatt für die medicinischen Wissenchaften,* 1864, n° 52 et n° 53. — DU MÊME. *Ueber die Zerzetzungsproducte des Hämoglobins.* In *Centralblatt für die med. Wiss.* 1865, n° 5. S. 65. — DU MÊME. *Ueber die Einwirkung des Schwefelwasserstoffs auf den Blutfarbstoff.* In *medicinisch-chemische Untersuchungen,* 1866, Heft I, S. 151. — ARTHUR GAMGEE. *Note on the Action of nitric Oxide, nitrous Acid and Nitrites on Hämoglobin.* In *Proceedings of the royal Society of Edinburgh,* 1866-67, t. VI, p. 109. —PREYER. In *Pflügers Archiv für die gesammte Physiologie,* 1868, Bd I, S. 448-451. — PFLÜGER und ZUNST. In *Pflügers Archiv für die gesammte Physiologie,* 1868, Bd I, S. 361-374. — L. MEYER. In *Zeitschrift für rat. Med.* N. F. Bd VIII, S. 256. — PREYER. *Ueber einige Eigenschaften des Hämoglobins und des Methämoglobins.* In *Pflügers Archiv für die gesammte Physiologie,* 1868, Bd I, S. 395. — HOPPE-SEYLER. *Ueber die Zersetzungen des Hämoglobins.* In *Med. chem. Untersuchungen,* 1868, Heft 3, S. 377. — ARTHUR GAMGEE. *On the Action of Nitrites on Blood.* In *Philosophical Transactions,* 1868, p. 589. — RABUTEAU. *Recherches sur les propriétés et le mode d'élimination des azotites de sodium et de potassium,* 1870. — H.-C. SORBY. *On some compounds derived from the Colouring Matter of Blood.* In *Quarterly Journal of microscopical science,* 1870, new series, vol. X, p. 400. — RAY LANCASTER. *Note on Methämoglobin.* In *Quarterly Journal of microscopical science,* 1870, new series, vol. X, p. 402. — HOPPE-SEYLER. *Handbuch der physiolog. patholog. chem. Analyse,* 3 Aufl. Berlin, 1870, S. 220. — STRASBURG. In *Pflügers Archiv für die gesammte Physiologie,* Bd IV, S. 451-464. — HOPPE-SEYLER. *Ueber die chemischen Eigenschaften und die Zusammensetzung des Blutfarbstoffs und seiner Spaltungs-*

producte. Zusammenstellung der Ergebnisse. In *Med. chem. Untersuchungen,* 1871, Heft IV, S. 544-550. — STARKOW. *Zur Toxicologie der Körper der Benzingruppe.* In *Virchows Archiv,* 1871, Bd LII, S. 464. — PREYER. *Die Blutcrystalle.* Jena, 1871. — SORBY. In *Monthly microscop. Journal,* 1871, p. 11. — RABUTEAU. In *Comptes rendus de la Société de Biologie,* 1875, p. 252. — JOLYET et REGNARD. *Note sur les modifications apportées dans les produits de la respiration et sur le sang par les inhalations de nitrite d'amyle, communiquée à la Société de Biologie, à la séance du 17 juin.* In *Gazette médicale de Paris,* 1876, p. 340. — AXEL JÆDERHOLM. *Undersökningar of blodfärgämnet och dess sönderdelnings producter.* In *Nordiskt Medicinskt Arkiv,* 8, n° 12, analysé in *Jahresbericht über Thier-Chemie,* 1876, S. 85. — DU MÊME. In *Zeitschrift für Biologie,* 1877, Bd XIII, S. 193-255. — HOPPE-SEYLER. *Traité d'analyse chimique appliquée à la Physiologie et à la Pathologie, traduit par* F. SCHLAGDENHAUFFEN, 1877, p. 302-303 — HERMANN W. VOGEL. *Practische Spectralanalyse irdischer Stoffe,* S. 321, u. f. — HOPPE-SEYLER. *Ueber die Einwirkung der Faulniss und des Pancreasferments auf Oxyhämogtobin.* In *Zeitschrift für physiologische Chemie,* 1877-78, Bd I, Heft III, S. 133. — DU MÊME. *Vorläufige Mittheilungen.* In *Zeitschrift für physiologische Chemie* 1878, Bd I, Heft VI, S. 396. — DU MÊME. *Ueber Gährungsprozesse.* In *Zeitschrift für physiologische Chemie,* 1878-79, Bd II, S. 25. — DU MÊME. *Weitere Mittheilungen über die Eigenschaften des Blutfarbstoffs.* In *Zeitschrift für physiologische Chemie,* 1878-79, Bd II, S. 150. — JÆDERHOLM. *Om Methämoglobin.* In *Nordiskt medicinskt Arkiv,* 1879, T. XII, n° 24. — GIACOSA. *Ueber die Wirkung des Amylnitrits auf das Blut.* In *Zeitschrift für physiologische Chemie,* 1879, Bd III, S. 54. — L. LEWIN. *Ueber eine Elementareinwirkung des Nitrobenzols auf Blut.* In *Virchows Archiv,* 1879, Bd LXXVI, S. 443. — FÉLIX MARCHAND. *Ueber die Intoxication durch chlorsaure Salze.* In *Virchows Archiv,* 1877, Bd LXXVII, S. 455. — DU MÊME. *Ueber das Methämoglobin.* In *Virchows Archiv,* 1879, Bd LXXVII, S. 488. — DU MÊME. In *Jahresbericht über Thier-Chemie,* 1879, S. 99. — JÆDERHOLM. In *Jarhesbericht über Thier-Chemie,* 1879 S. 95. — DU MÊME. In *Zeitschrift für Biologie,* Bd XVI. S. 1-23. — TH. WEYL und B. VON ANREP. *Ueber Kohlenoxydhämoglobin.* In *du Bois Reymonds Archiv,* 1880, S. 227-240. — MAC MUNN. *The spectroscope in medicin,* Philadelphia, 1880. — HOPPE-SEYLER. *Ueber die Veränderungen des Blutes bei Verbrennungen der Haut.* In *Zeitschrift für physiologische Chemie,* 1881, Bd V, S. 1. — RŒHMANN.

Methämoglobin vork. in Blut n. Ingest. v. Natriumnitrit. In *Zeitschrift für physiologische Chemie,* 1881, Bd V, S. 240. — Hoppe-Seyler. In *Physiologische Chemie,* 1881, S. 375-376, 380, 385-386, 391, 476, 862. — Du même. *Ueber das Methämoglobin.* In *Zeitschrift für physiologische Chemie,* 1882, Bd VI, S. 166. — L. Saarbach. *Ueber das Methämoglobin.* In *Pflügers Archiv,* 1882, Bd XXVIII. S. 382-388. — J. Otto. *Ueber das Oxyhämoglobin des Schweines.* In *Zeitschrift für physiologische Chemie* 1882, Bd VII, S. 57. — G. Hüfner und H. Otto. *Ueber krystallinisches Methämoglobin.* In *Zeitschrift für physiologische Chemie* 1883, Bd VII, S. 65. — Danlos, Article *Sang* In *Nouveau Dictionnaire de médecine et de chirurgie pratiques,* 1882, T. XXXII. — Henninger. *Note sur la méthémoglobine.* In *mémoires, de la Société de Biologie,* 1882, septième série, t. IV, p. 711. — J. Otto. *Studien über das Methämoglobin.* In *Pflügers Archiv,* 1883, Bd XXXI, S. 245. — E. Salkowski. *Ueber das Verhalten des Kohlenoxydblutes zu Schwefelwasserstoff.* In *Zeitschrift für physiologische Chemie,* 1883, Bd VII, S. 114. — G. Hüfner und Richard Kulz. *Ueber den Sauerstoffsgehalt des Methämoglobins.* In *Zeitschrift für physiologische Chemie,* 1883, Bd VII, S. 366. — Von Mering. *Ueber die Wirkung des Ferricyankalium auf Blut.* In *Zeitschrift für physiologische Chemie,* 1883, Bd VIII, S. 186. — Hénocque. *Etude spectroscopique de l'action du nitrite de sodium sur le sang. Déductions physiologiques, toxicologiques et thérapeutiques.* In *Comptes rendus de la Société de Biologie,* 1883, p. 669. — Rabuteau. *Sur les altérations du sang produites par les nitrites, notamment par le nitrite de soude ou de sodium.* In *Comptes rendus de la Société de Biologie,* 1883, p. 685. — Brouardel et P. Loye. *Note sur l'action physiologique de la kairine.* In *Comptes rendus de la Société de Biologie,* 1884, Séance du 3 mai. — Quinquaud. *Note sur l'action du chlorhydrate de kairine.* In *Comptes rendus de la Société de Biologie,* 1884, Séance du 3 mai. — Du même. *Sur le spectre d'absorption produit par le chlorhydrate de kairine sur le sang.* In *Comptes rendus de la Société de Biologie,* 1884, Séance du 10 mai. — A. Conscience. *Contribution à l'étude du chlorhydrate de kairine.* Thèse de doctorat, Paris, 1884. — Hayem. *Expériences sur les substances toxiques ou médicamenteuses qui altèrent l'hémoglobine, et particulièrement sur celles qui la transforment en méthémoglobine.* In *Comptes rendus de l'Académie,* mars 1884, p. 580. — P. Decaye. Article *Kairine.* In *Nouveau Dictionnaire de médecine et de chirurgie pratiques,* 1884, T. XL, supplément. — Edefsen. *Ueber die*

Wirkung der chlorsauren Kali auf das Blut. In *Berliner klinische Wochens.* 1884, n° 22, S. 352. — G. Hüfner. *Ueber krystallinisches Methämoglobin vom Hunde.* In *Zeitschrift für physiologische Chemie,* 1884, Bd VIII, S. 366. — Axel. Jæderholm. *Studien über Methämoglobin.* In *Zeitschrift, für Biologie,* 1884, Bd XX, S. 419-448. *Siehe auch nächster Referat Red.* — Du même. *Studier öfver Methämoglobin.* In *Nordiskt medicinskt Arkiv,* 1884, 16, n° 17. Analyse in *Jahresbericht für Thier-Chemie,* 1884, S. 113. — Henninger. Article *Hémoglobine.* In *Dictionnaire de Chimie de Wurtz,* supplément II, G-Z. — E. Quinquaud. *Désoxygénation du sang chez l'animal vivant. Transformation de l'hémoglobine en méthémoglobine.* In *Comptes rendus de la Société de Biologie,* 1885, p. 86-88. — Krückenberg. *Zur Caracteristik einiger physikalisch und klinisch wichtigen Reactions.* In *Chem. Unters. zur wissench. Med.* Jena, S. 74. Analysé in *Canstatt's Jahresb.,* 1886, I, 118. — Halliburton. *Report on Hämoglobin and Methämoglobin crystals.* In *Med.* S. II, p. 106. Analysé in *Canstatt's Jahresb.,* 1886, I, 123. — Ewald. *Polarispectroscopische Untersuchungen von Blutcrystallen.* In *Zeitschrift für Biologie,* Bd XXII, S. 459. —Hayem. *Nouvelles recherches expérimentales sur les substances toxiques ou médicamenteuses qui transforment l'hémoglobine en méthémoglobine.* In *Comptes rendus de l'Académie,* mars 1886, page 698. — Du même. *La méthémoglobine d'origine médicamenteuse.* In *Revue scientifique,* 5 juin 1886. — Kiener et Engel. *Sur les altérations d'ordre hématique produites par le sulfure de carbone sur l'économie.* In *Comptes rendus de l'Académie des sciences,* séance du 9 août 1886. — Hénocque. Articles *Hémoglobine et Hémoglobinurie.* In *Dictionnaire encyclopédique des sciences médicales.*

TABLEAU I

Spectre de la Méthémoglobine acide

SOLUTION TRÈS ÉTENDUE

Divisions du micromètre	Longueurs d'onde correspondantes (exprimées en millionièmes de millimètre)	β	Intensité lumineuse transmise	Affaiblissement de l'intensité primitive prise pour unité
20	663,5	39°24′	0,805	0,195
29	646	33°42′	0,608	0,392
37	633	29°36′	0,488	0,512
44	623	32°18′	0,570	0,430
55	608	34°18′	0,629	0,371
65	595	33°18′	0,611	0,389
70	589,2	33°6′	0,592	0,408
78	580	31°	0,531	0,469
86 1/2	570,5	32°12′	0,567	0,433
92	565	31°54′	0,558	0,442
103	554	30°24′	0,512	0,488
119 1/2	538,5	22°12′	0,286	0,714
135 1/2	525	23°48′	0,326	0,674
146 1/4	517	19°18′	0,219	0,781
173	500	16°48′	0,167	0,833
196	486	19°	0,213	0,787
210	478	18°6′	0,193	0,807
240	462,5	15°12′	0,137	0,863

TABLEAU II

Spectre de la Méthémoglobine acide

SOLUTION DE CONCENTRATION MOYENNE

Divisions du micromètre	Longueurs d'onde correspondantes (exprimées en millionièmes de millimètre)	β	Intensité lumineuse transmise	Affaiblissement de l'intensité primitive prise pour unité
20	663,5	37°30′	0,742	0,258
25	654	33°36′	0,606	0,394
29	646	25°48′	0,377	0,623
34	638	19°	0,213	0,787
37	633	17°42′	0,185	0,815
40	629	18°6′	0,193	0,807
47 ½	618	20°6′	0,236	0,764
60	601	23°48′	0,326	0,674
70	589,2	22°24′	0,291	0,709
78	580	18°30′	0,202	0,798
86 ½	570,5	18°48′	0,208	0,792
92	565	18°42′	0,206	0,794
103	554	15°	0,134	0,866
119 ½	538,5	8°24′	0,042	0,958
135 ½	525	8°30′	0,043	0,957
140	522	5°30′	0,018	0,982

TABLEAU III

Spectre de l'Hématine acide

SOLUTION TRÈS ÉTENDUE DANS L'ALCOOL ACIDULÉ PAR SO^4H^2

Divisions du micromètre	Longueurs d'onde correspondantes (exprimées en millionièmes de millimètre)	β	Intensité lumineuse transmise	Affaiblissement de l'intensité primitive prise pour unité
29	646	35°12′	0,665	0,335
35	637	32°	0,562	0,438
41	627,5	29°30′	0,485	0,515
47 1/2	618	30°36′	0,518	0,482
60	601	30°6′	0,503	0,497
70	589,2	29°36′	0,488	0,512
78	580	28°42′	0,461	0,539
86 1/2	570,5	29°18′	0,479	0,521
92	565	28°18′	0,449	0,551
103	554	25°24′	0,368	0,632
120 1/2	537,5	22°	0,281	0,719
135 1/2	525	22°12′	0,286	0,714
140	522	21°24′	0,266	0,734
146 1/4	517	19°48′	0,229	0,771
176 1/2	497,5	15°12′	0,137	0,863
196	486	15°24′	0,141	0,859
210	478	13°54′	0,115	0,885
230	467,5	10°30′	0,066	0,934

TABLEAU IV

Spectre de l'Hématine acide

SOLUTION MOYENNEMENT CONCENTRÉE DANS L'ALCOOL ACIDULÉ PAR SO^4H^2

Divisions du micromètre	Longueurs d'onde correspondantes (exprimées en millionièmes de millimètre)	β	Intensité lumineuse transmise	Affaiblissement de l'intensité primitive prise pour unité
20	663,5	29°	0,471	0,529
25	654	27°	0,413	0,587
32	637	21°	0,256	0,744
41	627,5	15°30′	0,143	0,857
54	609	16°	0,152	0,848
60	601	17°	0,171	0,829
70	589,2	15°42′	0,147	0,853
78	580	15°18′	0,139	0,861
90	567	13°42′	0,112	0,888
103	554	10°48′	0,070	0,930
110	547,5	9°	0,048	0,952
120	538	7°12′	0,031	0,969
135	525,5	5°36′	0,019	0,981
140	522	5°	0,015	0,985

TABLE DES MATIÈRES

Pages

Introduction. V

CHAPITRE PREMIER.

Historique. 7

CHAPITRE II.

Modes de formation de la méthémoglobine. 33
Préparation de la méthémoglobine cristallisée. 38
Propriétés de la méthémoglobine. 43
Spectre de la méthémoglobine. 47
Composés de la méthémoglobine. 53
Constitution de la méthémoglobine. 56

CHAPITRE III.

La méthémoglobine dans l'organisme. 72

CHAPITRE IV.

Recherche et dosage de la méthémoglobine. 86

CHAPITRE V.

Recherches expérimentales.

Modes de production de la méthémoglobine. 91
Spectre de la méthémoglobine acide. 92
Spectre de la méthémoglobine alcaline. 96
Spectres de l'hématine acide ; leur différenciation d'avec le spectre de la méthémoglobine acide. 98
Spectres des solutions sanguines traitées par les acides ; leur différenciation d'avec le spectre de la méthémoglobine acide ; action des acides sur le sang. 100
Différenciation de la méthémoglobine et de l'hématine par les spectres des solutions alcalines de ces deux substances. 105

Différenciation de la méthémoglobine et de l'hématine par les modifications qu'elles subissent sous l'influence des agents de réduction. 107
Recherche de la méthémoglobine. 108
De la méthémoglobine dans certains liquides de l'organisme. 110
Conclusions 112
Bibliographie. 115
Tableau I 119
— II. 120
— III. 121
— IV. 122

Vu bon a imprimer :
Montpellier, le 26 mars 1888.
Le Recteur de l'Académie
Correspondant de l'Institut :
G. CHANCEL.

Vu permis d'imprimer :
Montpellier, le 27 mars 1888.
Le Doyen,
A. CASTAN.